

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CC - DQOI

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE
PITHECOLOBIUM SAMAN BENTH
SAPINDUS SAPONARIA LINN

ARLETE LUZ MENDES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

FORTALEZA-CEARÁ
1991

Esta Dissertação foi apresentada como parte dos requisitos necessários a obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

Arlete Luz Mendes

TESE APROVADA EM 15/03/91

EXAMINADORES

Profa. Telma Leda Gomes de Lemos
Orientadora

Profa. Marília Oliveira Goulart
Univ. Federal de Alagoas

Prof. Eco. José de Abreu Matos
Univ. Federal do Ceará

Prof. Edilberto Rocha silveira
Univ. Federal do Ceará

Este trabalho foi realizado sob a orientação da
Profa. TELMA LEDA GOMES DE LEMOS e coorientação da Profa.
MIRIAM PINHEIRO SOUSA, ambas da Universidade Federal do Ceará.

AGRADECIMENTOS

As Professoras TELMA LEDA GOMES DE LEMOS e MIRIAM PINHEIRO DE SOUSA pela valiosa contribuição durante a realização deste trabalho.

A todos os Professores do Curso de Pós-graduação e em especial a EDILBERTO ROCHA SILVEIRA, CARLOS HUMBERTO SOUSA ANDRADE, MARIA IRACEMA LACERDA MACHADO e FRANCISCO JOSÉ QUEIROZ MONTE.

Ao Professor FRANCISCO JOSÉ DE ABREU MATOS (Departamento de Química, UFC) pela sugestão do estudo fitoquímico de *Pithecolobium saman* Benth.

Ao colega MANOEL ANDRADE NETO pela coleta das plantas estudadas.

Ao Professor AFRÂNIO GOMES FERNANDES (Departamento de Biologia, UFC) pela identificação Botânica das plantas estudadas.

Ao Professor RAIMUNDO BRAZ FILHO (Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro) pela valiosa ajuda na interpretação dos espectros.

Ao Professor CHARLES D. HUFFORD (Universidade do Mississippi) Pela obtenção dos espectros das substâncias isoladas e apresentadas neste trabalho.

RESUMO

Este trabalho versa sobre o estudo fitoquímico de duas espécies *Pithecolobium saman* Benth (Leguminosae) e *Sapindus saponaria* (Sapindaceae).

Do extrato cloroformio-metanol de *P. saman* foram isolados o ácido 3β -hidroxi-olean-12(13)-en-28-óico (ácido oleanólico), α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranosídeo (sacarose) na forma peracetilada e uma saponina inédita cuja aglicona é o ácido oleanólico e a glicona constituída de arabinose, xilose, ramnose e glicose com a razão molar 1:3:5:8.

Do extrato cloroformio-metanol de *Sapindus saponaria* foram isolados o ácido $3\beta,23$ -diidroxi-olean-12(13)-en-28-óico (hederagenina) o acetonídeo de hederagenina e duas saponinas: 3β -O-[α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glicopiranosil]-23-ol-olean-12(13)-en-28-óico (inédita) e o ácido 3β -O-[α -L-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosil]-23-ol-olean-12(13)-en-28-óico.

Todas estas substâncias tiveram suas estruturas elucidadas por métodos físicos, IV., EM, RMN ^1H , RMN ^{13}C , COSY, HETCOR, APT, DEPTGL e reações químicas sempre que necessário.

ABSTRACT

This work is related to a phytochemical study of two species *Pithecolobium saman* Benth (Leguminosae) e *Sapindus saponaria* Linn (Sapindaceae).

From chloroform-methanol extract of *P. saman* the 3β -hydroxy-olean-12(13)-en-28-oic acid (oleanolic acid), α -D-glucopyranosyl- β -D-fructofuranoside (sucrose) were isolated on its peracetylated form and a new saponin whose aglycone is the oleanolic acid and the carbohydrate moiety composed by arabinose, xylose, rhamnose and glucose with molar ratio 1:3:5:8.

From chloroform-methanol extract of the *S. saponaria* were isolated the $3\beta,23$ -dihydroxy-olean-12(13)-en-28-oic (hederagenin) and its acetonid derivative, two saponins 3β -O-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-- β -D-glucopyranosyl]-23-ol-olean-12(13)-en-28-oic acid (unknown) and the 3β -O-[α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-- β -D-glucopyranosyl]-23-ol-olean-12(13)-28-oic acid.

Structures determination was performed by chemical dererivatization and spectral analysis (I.R., MS, Proton and Carbon-13 NMR, including techniques such as COSY, HETCOR, APT, DEPTGL) and comparison with autentic samples wherever the case.

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Espectro de RMN ^1H de Ps-2(ácido oleanólico)	32
FIGURA 1a - Espectro de massa de Ps-2(ácido oleanólico)	34
FIGURA 2 - Espectro de RMN ^{13}C de Ps-2 (ácido oleanólico)	36
FIGURA 3 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ps-2 (ácido oleanólico)	39
FIGURA 4 - Espectro I.V. de Ps-2MeAc	41
FIGURA 5 - Espectro de RMN ^1H de Ps-2MeAc	42
FIGURA 2a - Espectro de massa de Ps-2MeAc	43
FIGURA 6 - Espectro de RMN ^{13}C de Ps-2MeAc	45
FIGURA 7 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de Ps-2MeAc	46
FIGURA 8 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ps-2MeAc	47
FIGURA 9 - Espectro em 2D, ^{13}C - ^1H (HETCOR) de Ps-2MeAc	48
FIGURA 10 - Espectro em 2D, ^1H - ^1H (COSY) de Ps-2MeAc	49
FIGURA 11 - Cromatograma das oses de Ps-3 sob a forma de acetatos de alditóis	52

FIGURA 12 - Espectro I.V. de Ps-4Ac	55
FIGURA 13 - Espectro de RMN ^1H de Ps-4Ac	57
FIGURA 14 - Espectro em 2D, ^1H - ^1H (COSY) de Ps-4Ac	59
FIGURA 3a - Espectro de massa de Ps-4Ac	61
figura 15 - Espectro de RMN ^{13}C de Ps-4Ac	63
FIGURA 16 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ps-4Ac	64
FIGURA 17 - Espectro I.V. de Ss-6MeAc	81
FIGURA 18 - Espectro de RMN ^1H de Ss-6MeAc	82
FIGURA 4a - Espectro de massa de Ss-6MeAc	85
FIGURA 19 - Espectro de RMN ^{13}C de Ss-6MeAc	88
FIGURA 20 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de Ss-6MeAc	91
FIGURA 21 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-6MeAc	92
FIGURA 22 - Espectro em 2D, ^{13}C - ^1H (COSY) de Ss-6MeAc	93
FIGURA 23 - Espectro em 2D, ^{13}C - ^1H (HETCOR) de Ss-6MeAc	94
FIGURA 23A - Espectro es 2D, ^{13}C - ^1H (HETCOR) de Ss-6MeAc	95
FIGURA 24 - Espectro I.V. de Ss-5 (acetonídio)	96
FIGURA 25 - Espectro I.V. de Ss-5Me (acetonídio éster metílico)	98

FIGURA 26 - Espectro de RMN ^1H de Ss-5	99
FIGURA 27 - Espectro de RMN ^1H de Ss-5Me	100
FIGURA 28 - Espectro de massa de Ss-5	102
FIGURA 29 - Espectro de massa de Ss-5Me	104
FIGURA 28 - Espectro de RMN ^{13}C de Ss-5	106
FIGURA 29 - Espectro de RMN ^{13}C de Ss-5Me	107
FIGURA 30 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de Ss-5	108
FIGURA 31 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de Ss-5Me	109
FIGURA 32 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-5	110
FIGURA 33 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-5Me	111
FIGURA 34 - Espectro em 2D, $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (HETCOR) de Ss-5	112
FIGURA 35 - Espectro em 2D, $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (HETCOR) de Ss-5Me	113
FIGURA 36 - Espectro I.V. de Ss-2Ac	115
FIGURA 37 - Espectro de RMN ^1H de Ss-2Ac	116
FIGURA 38 - Espectro de RMN ^{13}C de Ss-2Ac	118
FIGURA 39 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-2Ac	119
FIGURA 40 - Espectro I.V. de Ss-3Ac	124

FIGURA 41 - Espectro de RMN ^1H Ss-3Ac	125
FIGURA 41a - Expansão de RMN ^{13}C de Ss-3Ac	126
FIGURA 42 - Espectro de RMN ^{13}C de Ss-3Ac	128
FIGURA 43 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-3Ac	129

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 1 - A Tabela 1 representa os resultados de um levantamento bibliográfico não exaustiva da família *Leguminosae* abordando-se principalmente triterpenos e esteróides e em alguns casos outros constituintes julgados interessantes

4

TABELA 2 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (oleanolato de metila), Ps-2, Mod. 2 (oleanolato de metila acetilado) e Ps-2MeAc

38

TABELA 3 - Dados de CGL-MS relativos aos acetatos de alditóis das oses de Ps-3

53

TABELA 4 - Dados de CGL-MS relativos aos acetatos de alditóis dos padrões

53

TABELA 5 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (α -D-glicopiranosil-- β -D-frutofuranosídeo), Ps-4Ac (α -D-glicopiranosil-- β -D-frutofurano-

TABELA 6 - Deslocamento químico de hidrogênios acetoximetilênicos e hidroximetilênicos no espectro de RMN ^1H de Triterpenóides (valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 60MHz)

84

TABELA 7 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (hederagenina éster metílico), Mod 2 (peracetato de hederagenina), Ss-5, Ss-5Me, Ss-6MeAc, Ss-2Ac e Ss-3Ac

90

TABELA 8 - Dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (glicose peracetilada), Mod. 2 (ramnose peracetilada) e glicona de Ss-2Ac

121

TABELA 9 - Dados do RMN ^{13}C da glicona de Ss-3Ac, Mod. 1(glicose peracetilada), Mod. 2 (ramnose peracetilada) e Mod. 3 (arabinose)

131

LISTA DE QUADROS

	Página
QUADRO 1 - Fragmentação proposta para Ps-2	35
QUADRO 2 - Fragmentação proposta para Ps-2MeAc	44
QUADRO 3 - Fragmentação proposta para Ps-4Ac	60
QUADRO 4 - Fragmentação proposta para Ss-6MeAc	86
QUADRO 5 - Fragmentação proposta para Ss-5	103
QUADRO 6 - Fragmentação proposta para Ss-5Me	105

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE QUÁDROS	XIII
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - LIGEIRAS CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA DAS LEGUMINOSAS	3
3 - IMPORTÂNCIA DAS SAPONINAS	20
4 - PROPOSIÇÃO	25
5 - CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE <i>PITHECOLOBIUM</i> <i>SAMAN</i> (JACQ) BENTH	26
6 - CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE <i>PITHECOLOBIUM SAMAN</i> BENTH	27
7 - ESQUEMA 1 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>PITHECOLOBIUM SAMAN</i> BENTH	30
8 - DISCUSSÃO SOBRE A DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>PITHECOLOBIUM SAMAN</i> BENTH	31
9 - EXPERIMENTAL: <i>PITHECOLOBIUM SAMAN</i> BENTH	66
10 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>PITHECOLOBIUM SAMAN</i> BENTH E SEUS DERIVADOS	72
11 - CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE <i>SAPINDUS SAPONARIA</i>	

LINN	76
12 - CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE <i>SAPINDUS SAPONARIA</i> LINN	77
13 - ESQUEMA 2 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>SAPINDUS SAPONARIA</i> LINN	79
14 - DISCUSSÃO SOBRE A DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <i>SAPINDUS SAPONARIA</i> LINN	80
15 - EXPERIMENTAL: <i>SAPINDUS SAPONARIA</i> LINN	132
16 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE <i>SAPINDUS SAPONARIA</i> LINN E SEUS DERIVADOS	138
17 - MATERIAIS E MÉTODOS	146
18 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	149

1 - INTRODUÇÃO

Desde as mais remotas épocas, que as plantas e os seus produtos têm sido utilizados pela humanidade como: alimentos, bebidas, temperos, aromatizantes, cosméticos e medicamentos¹.

A curiosidade natural do homem, aliada às inúmeras utilidades das plantas e seus produtos, levaram a humanidade a estudá-las em maior profundidade. Consequentemente, surgiram ciências tais como: Botânica, Microbiologia, Fisiologia Vegetal, Fitoquímica e Farmacognosia que interrelacionadas mas com certo grau de diferenciação respaldam o conhecimento humano na busca incessante de um completo conhecimento do reino vegetal. Esta busca levou ao desenvolvimento da metodologia na investigação química e biológica de produtos vegetais. A disponibilidade de métodos e a necessidade de atendimento da humanidade levaram muitos fitoquímicos a se interessarem pelo isolamento de produtos vegetais especialmente aqueles que apresentam atividade biológica. O uso rotineiro de espectrometria de massas, RMN ^1H , RMN ^{13}C , como também de técnicas clássicas como infravermelho, ultravioleta, poder rotatório, determinação do ponto de fusão e até mesmo a aplicação de cristalografia de raios-X de substâncias cristalinas, têm sido ferramentas úteis e necessárias na determinação estrutural de moléculas orgânicas complexas. além

das técnicas citadas a aplicação de reações químicas conhecidas têm sido auxiliares indispensáveis para identificação da estrutura de compostos orgânicos. Na última década métodos modernos de ressonância nuclear vieram se somar a este conjunto técnicas facilitando deste modo a elucidação estrutural dos compostos.

2 - LIGEIRAS CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA DAS LEGUMINOSAS

Dentro do reino vegetal a família *Leguminosae* se apresenta como uma das maiores, compreendendo 650 gêneros e 1800 espécies. Sua origem é desconhecida, no entanto, no Eoceno já era grande e diversa². É considerada uma família "Generalista" pois as plantas desta família variam de florestas gigantes para matas minúsculas e efêmeras com grande variedade nas maneiras de crescimento, modos de reprodução e defesa². A família *Leguminosae* encontra-se espalhada em todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais. São plantas de hábitos diferenciados vivendo em áreas de topografia diversificada, sujeitas a variações climáticas e em diferentes latitudes². A versatilidade da família *Leguminosae* valoriza a sua grande importância econômica. É conhecido o seu potencial como alimento e forragem [*Medicago*, *Glycine*, *Phaseolus*]. Ao longo do tempo o uso mais efetivo da imensa variação natural da família *Leguminosae* tem sido para: fixação de nitrogênio, conservação da terra, uso em medicamentos [*Trigonella* e *Glicyrriza*], produção de madeira [*Dalbergia*, *Machaerum*, *Albizia*], combustível, pesticidas, carboidratos, óleos e forragem^{2, 3}. A sua utilidade como forragem tem levado a um estudo mais cuidadoso desta família por causa do efeito alelopático atribuído a alto teor de saponinas em algumas espécies².

Dentre os constituintes químicos encontrados na família *Leguminosae* o grupo das saponinas apresenta-se como um dos melhores representados.

A Tabela I representa os resultados de um levantamento bibliográfico não exaustivo da família *Leguminosae*, abordando-se principalmente triterpenos e esteróides e em alguns casos outros constituintes julgados interessantes.

TABELA I

Esécie	Parte estudada	Substância	Ref.
<i>Albizzia amara</i> Benth.	Semente	Ac. echinocístico[II]	4
<i>A. anthelmintica</i> Brongn.	Casca	Ac. echinocístico[II]	5, 6
<i>A. lebbeck</i> Benth.	Semente	Ac. oleanólico[III] Ac. echinocístico[II]	6
<i>A. lebbeck</i> Benth.	Vagens (s/casca)	Ac. oleanólico[III] Ac. echinocístico[II]	6
<i>A. lebbeck</i> Benth.	Vagens (completas)	Ac. oleanólico[III] Ac. echinocístico[II] Ac. albigênico[IIII]	6, 7

		Albigenina[IV]	
		Ac. acácico[V]	
<i>A. lebbeck</i> Benth.	Casca	Ac. acácico[V]	8
<i>A. lebbeck</i> Benth.	Flores	Ac. echinocístico[II]	9
		Quercetina[VII]	
<i>A. lebbeck</i> Benth.	Semente	Ac. echinocístico[II]	6
	Flores	Ac. oleanólico[III]	
		Ac. albigênico[IIII]	
<i>A. lucida</i> Benth.	Semente	Ac. echinocístico[II]	6
<i>A. molucana</i> Miq.	Semente	Novo triterpeno ácido e nova genina neutra triterpenoidal	6
<i>A. odorotissima</i> Benth.	Semente	Ac. echinocístico[II]	6, 10
		Ac. machaerínico[VIII]	
		Ac. acácico[V]	
<i>A. procera</i> Benth.	Semente	Ac. machaerínico[VIII]	6, 11
		Ac. procérico[VIII]	
<i>A. stipulata</i> Bolv.	Semente	Ac. acácico[V]	6, 12

<i>Acacia concinna</i> DC.	Semente	Ac. acácico[V]	6, 13
<i>A. concinna</i> DC.	Vagem	Ac. acácico[V]	14
<i>A. intsia</i> Willd.	Semente	Ac. acácico[V]	6, 15
	Casca	Acaciol Lupeol[IX]	
<i>A. intsia</i> Willd.	Semente	Ac. acácico[V]	13
<i>A. modesta</i> Lindl.	Casca	α -Amirina[IX]	16
	Folhas	Betulina[XI]	
	Cerne	β -Sitosterol[XII] Octacosanol [CH ₃ (CH ₂) ₂₆ CHOH] Hentriacontano [CH ₃ (CH ₂) ₂₉ CH ₃] Octacosano [CH ₃ (CH ₂) ₂₆ CH ₃] Hentriacontanol [CH ₃ (CH ₂) ₂₉ CH ₂ OH]	
<i>A. myrtifolia</i> Willd.	Flores	Ac. oleanólico[III]	17, 18
	Folhas	Myrtifoliosides	
	Raiz		
<i>A. senegal</i> Wild.	Casca	β -Amirina[XIII]	19
	Flores	Uvaol	
	Raiz	Sitosterol[XII]	
	Cerne	Nonacosano [CH ₃ (CH ₂) ₂₇ CH ₃] Hentriacontano	

		$[CH_3(CH_2)_{29}CH_3]$ Octacosanol $[CH_3(CH_2)_{26}CH_2OH]$ Hentriacontanol $[CH_3(CH_2)_{29}CH_2OH]$ Alcool cerílico Alcool betulínico[XII]	
<i>Abrus precatorius</i> Linn.	Semente	β -Sitosterol[XIII] Estigmasterol[XIV]	20
<i>Castanospermum</i> <i>australe</i> A. Cunn.	Madeira Casca	Baiaagenina Castanogenol Ac. medicagénico[XV] Ac. hederágico	21, 22
<i>Cicer arietinum</i> Linn.	Semente	β -Sitosterol[XIII]	23
<i>Caesalpinia bonduc</i> Adans.	-	β -Sitosterol[XIII] Ipuranol	24
<i>Coronilla glauca</i> Linn.	-	Aloglaucotoxigenina[XVI]	25
<i>C. hyrcana</i>	-	Hircanogenina	25
<i>C. scorpioides</i> Koch.	-	Corocotoxigenina[XVII]	25
<i>Cassia nodosa</i> Buch.	Flores	β -Sitosterol[XIII] Campesterol	26
<i>C. occidentalis</i> Linn.	Semente	β -Sitosterol[XIII] Campesterol	26
<i>Dalbergia barretona</i> Hoehne.	Madeira	β -Sitosterol[XIII] Ac. O-acetiloleanólico [XVIII]	27

<i>D. villosa</i> Benth.	Madeira	β -Sitosterol[XIII] Ac. acetiloleanólico [XVIII]	27
<i>D. violacea</i> Hoffmugg.	Madeira	β -Sitosterol	28
<i>Desmodium pulchellum</i> Benth.	Raiz	α -Amirina[XI]	29
<i>Derris scandeus</i> Benth.	Flores Caule	β -Sitosterol[XIII] Taraxerol[XIX] Lupeol[IX]	30
<i>Entada pursaeta</i> DC.	Semente	Ac. entagênico	31
<i>E. scandeus</i> Benth	-	Ac. entagênico	32
<i>Erythrina subumbrans</i> Merrill.	Madeira	β -Sitosterol[XIII]	24
<i>E. suberosa</i> Roxb.	Casca	β -Sitosterol[XIII] Campesterol Estigmasterol[XIV] Colesterol	33
<i>E. variegata</i> Linn.	Casca	β -Sitosterol	34
<i>Glycyrrhiza echinata</i> Linn.	Raiz	Ac. glicirrético[XX]	23
<i>G. glabra</i> Linn.	Raiz	Ac. deoxiglicirrético [XXI]	23
	Grana	Ac. glicirrético[XX] Ac. glabrínico	35

		Ac. liquiritico[XXIII]	
		Grabrolídio	
		Isograbolídio	
		Doxiglabrolidio	
		Saponinas	
<i>Glycine max</i> Merrill.	Semente	Soiasapogenol ACXXIII]	36
		" BCXXIV]	
		" CCXXV]	
		" DCXXVI]	
		" ECXXVII]	
<i>Gleditsia triacanthos</i>	Fruto	Triacantosídio A	37, 38
	Semente	" B	
		" C	
		" D	
		" G	
		Glicosídios B e C	
<i>Lotus corniculatus</i> Linn.	Folha	Soiasapogenol BCXXVI]	39
<i>Lupinus luteus</i> Linn	Casca de semente	Lupeol[IX]	23
<i>Helilotus albus</i>	Semente	Glicosídio terpenico	40
<i>Mora excelsa</i>	Cerne	Ac. morólico[XXVIII]	41
<i>M. gonggrijpii</i> (Kleinh) Sandwith.	Madeira	Ac. oleanólico[III]	42

<i>Nachaerium</i> <i>ininterruptible</i> Benth.	Cérne'	Aldeído O-acetilolea- nólico[XXIX]	43
		Ac. O-acetiloleanólico [XVIII]	
		Acetato β -amirina[XXX]	
		3-Acetil-eritrodio[XXXI]	
<i>N. scleroxylon</i> Allem.	Madeira	Aldeído O-acetilolea- nólico[XXIX]	44
<i>Medicago sativa</i> Linn.	Folhas	Soiasapogenol A[XXIII]	36
	Sementes	" B[XXIV]	45
		" C[XXV]	
		" D[XXVI]	
		" E[XXVII]	
		Ac. medicagênico[XV]	
		Ac. lucernico	
		α -Espinasterol[XXXII]	
		β -Espinasterol	
<i>Ononis spinosa</i>	Raiz	α -Onicerol	23
<i>Pterocarpus</i> <i>angolensis</i> DC.	Madeira	Ac. O-acetiloleanólico [XVIII]	46
<i>P. santalinus</i> Linn.	Casca	Lupenodiol	47, 48
<i>Periandra dulcis</i> Mart.	Raiz	Ac. glicirrético[XX] 49, 50	
		Ac. periândrico I[XXXIII] 51	
		" " II[XXXIV] 52	
		" " III[XXXV] 53	
		" " IV[XXXVI]	
		Ac. 3,25-dioxolean-12(13)- en-30-óico[XXXVII]	

		Ac. 3,25-dioxolean-18(19)- en-30-oico[XXXVIII]	
<i>Pithecolobium dulce</i> Benth	Semente	Ac. procérico[VIII]	6, 54
		Ac. oleanólico[III]	55
		Ac. echinocístico[II]	
<i>P. saman</i> (Jacq) Benth.	Vagem	Ac. acácico[IV]	56, 57
	Semente		58, 59
	Flores		
	Madeira		
	Casca		
<i>Pachyrrhizus erosus</i> Linn.	Casca	Pachisapogenina A	60
		" B	
<i>Phaseolus vulgaris</i> Linn.	Semente	Estigmasterol[XIV]	23, 61
		β -Sitosterol[XIII]	62
		Faseolídio DCXXXIV]	
		" E[XL]	
<i>Robinia pseudocacia</i> Linn.	Madeira	Estigmasterol[XIV]	24
		β -Sitosterol[XIII]	
<i>Sesbania aegyptica</i> Pers.	Semente	Ac. oleanólico[III]	6, 63
		Genina neutra	
<i>S. aculeata</i> Poir.	Semente	Ac. oleanólico[III]	6, 64
		Genina neutra	
<i>S. grandiflora</i> Poir.	Semente	Ac. oleanólico[III]	6
<i>S. speciosa</i> Forest Brown.	Semente	Ac. oleanólico[III]	6, 65

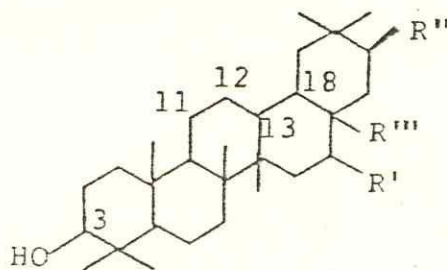
<i>Styphodenodron coriaceum</i> Benth	Semente	Estifodenodrona B[XLII] " F[XLIII]	66
<i>Spartium junceum</i> Linn.	Petalas	Lupeol[IX] β -Sitosterol[XII]	23
<i>Sophora japonica</i> Linn	Flores	Esteróis insaturados	32, 67
	Fruto	Triterpenos	
	Folhas	Álcool betulínico[XI]	
	Caulé	Soforadiol	
	Raiz		
<i>Swartzia madagascariensis</i> Desv.	Semente	Swartziagenina	68, 69
	Vagem	Swartziasapogenina A " B Ac. oleanólico[XII]	70, 71
<i>Trigonella calliceras</i> Fisch.	Semente	Esteróide nao identificado	6, 72
<i>T. coerulea</i> Auct.	Semente	Diosgenina[XLIII]	6, 72
<i>T. corniculata</i> Linn.	Semente	Diosgenina[XLIII] Gitogenina[XLIV]	6, 72
<i>T. cretica</i> Boiss.	Semente	Diosgenina[XLIII]	6, 72
<i>T. foenum-graceum</i> Linn.	Semente	Diosgenina[XLIII] Gitogenina[XLIV] Quercetina[XVI]	6, 72 73
<i>Vigna adnantha</i>	-	Soiasapogenol	61

V. radiata L. Wilczek Semente

Soiasapogenol [CXXV]
(como glicosídeo)

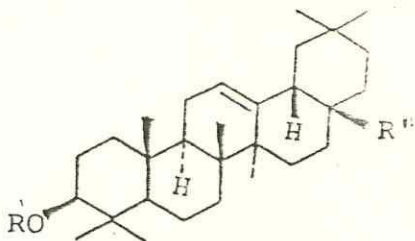
23

ESTRUTURAS DAS SUBSTÂNCIAS MENCIONADAS NA TABELA - 1

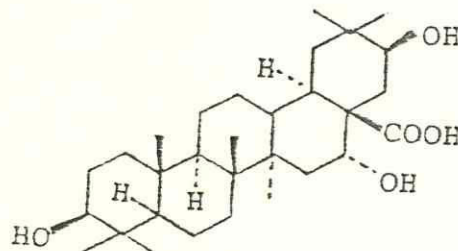


- (I) $R' = OH$ (); $R'' = H$; $R''' = COOH$; Δ^{12-13}
 (III) $R = OH$; $R'' = H$; $R''' = COOH$; Δ^{13-18}
 (VII) $R' = H$; $R'' = OH$; $R''' = COOH$; Δ^{12-13}
 *(VIII) $R' = H$; $R'' = OH$; $R''' = COOH$; Δ^{12-13}
 (IV) $R' = O$; $R'' = R''' = H$; Δ^{13-18}

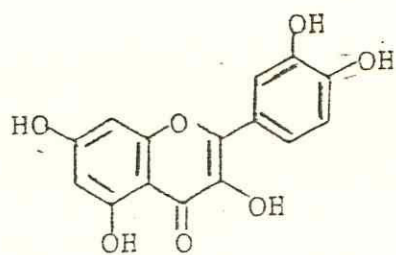
*O anel E é na forma barco, o D é quase barco, a fusão dos anéis DE é cis e o H-18 é β



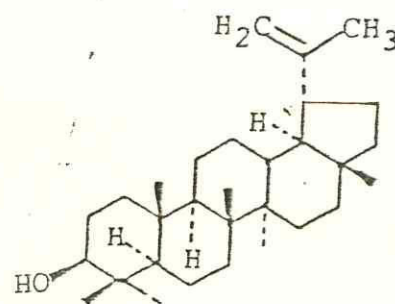
- (II) $R = H$; $R'' = COOH$
 (XVIII) $R' = Ac$; $R'' = COOH$
 (XXIX) $R' = Ac$; $R'' = CHO$



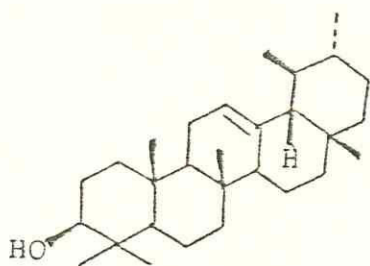
(V)



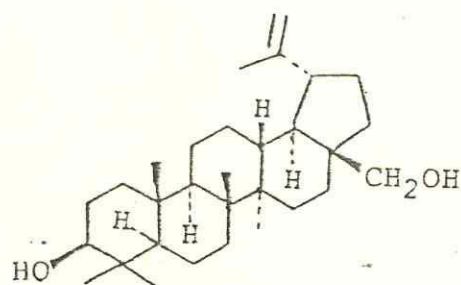
(VI)



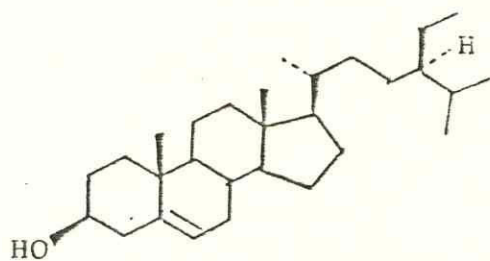
(IX)



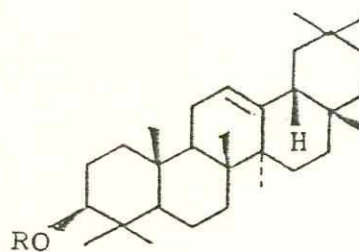
(X)



(XI)

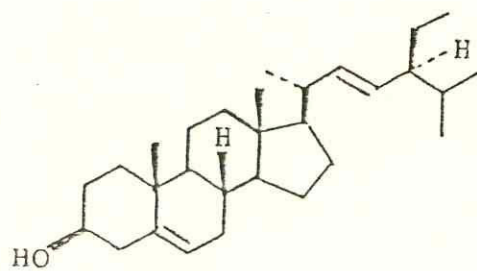


(XII)

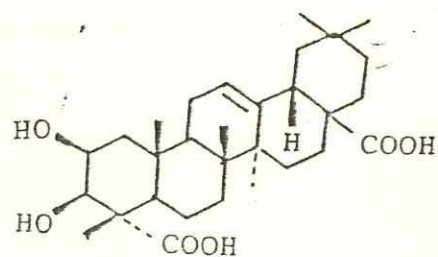


(XIII) R=H

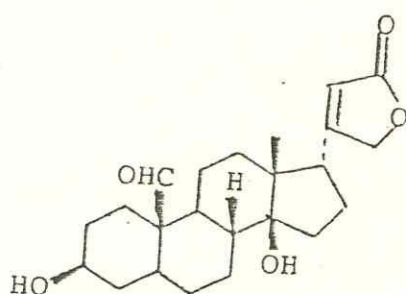
(XXX) R=Ac



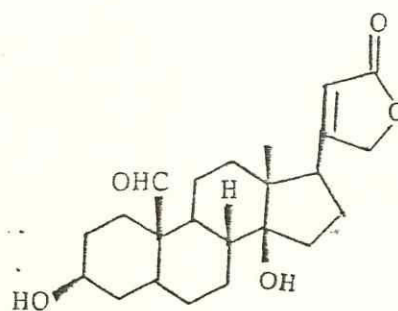
(XIV)



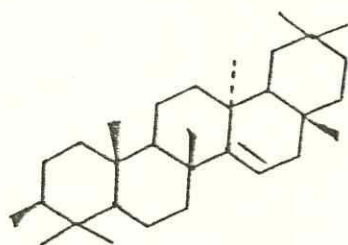
(XV)



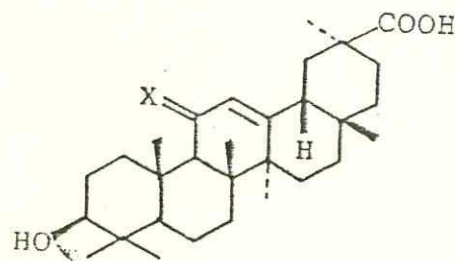
(XVI)



(XVII)

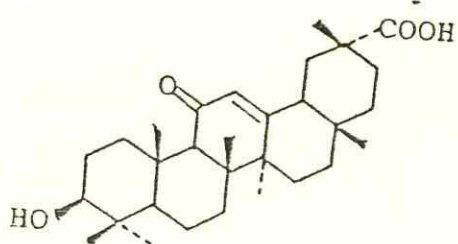


(XIX)

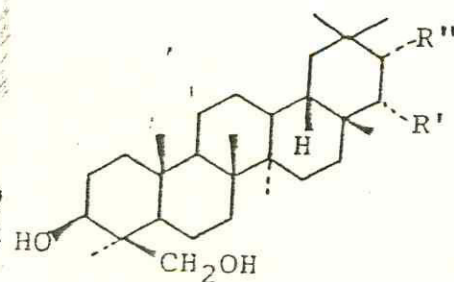


(XX) X=O

(XXI) X=H₂



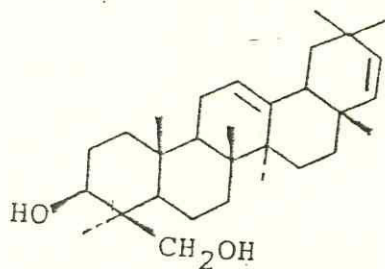
(XXII)



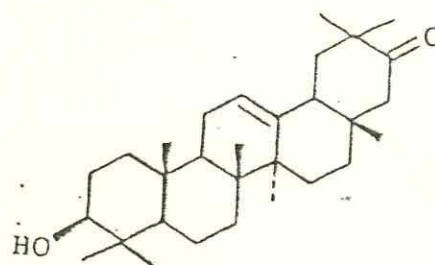
(XXIII) $R' = R'' = \text{OH}$; Δ^{12-13}

(XXIV) $R' = \text{H}$; $R'' = \text{OH}$; Δ^{12-13}

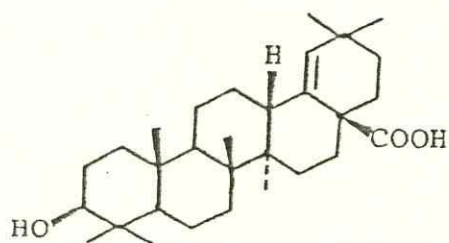
(XXVI) $R' = \text{H}$; $R'' = \text{OMe}$; Δ^{13-18}



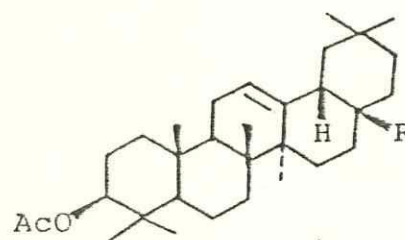
(XXV)



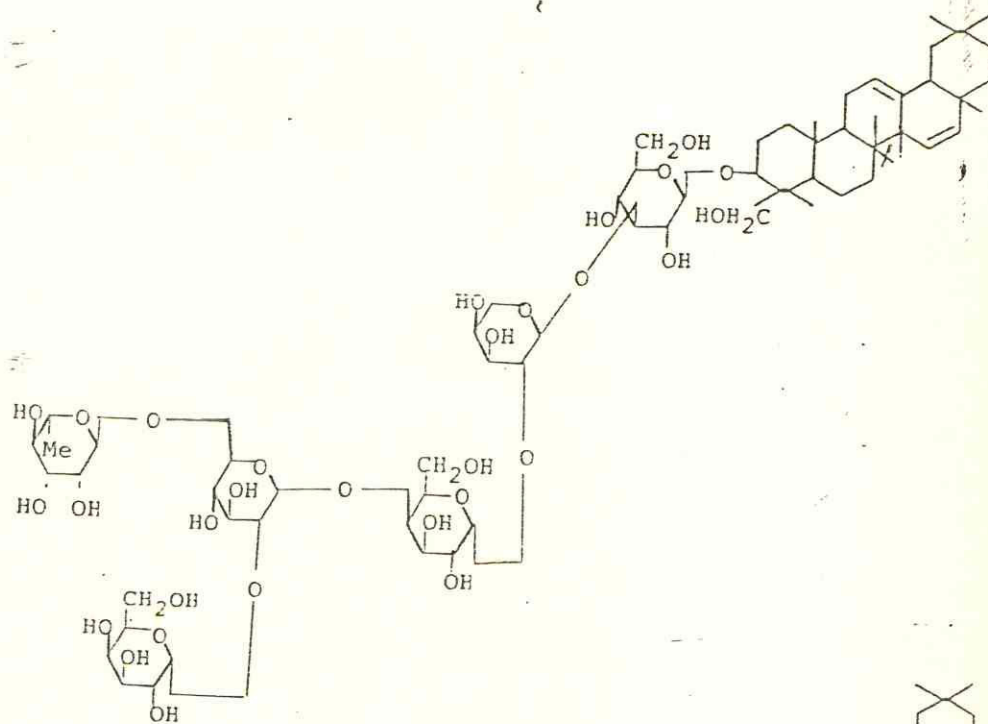
(XXVII)



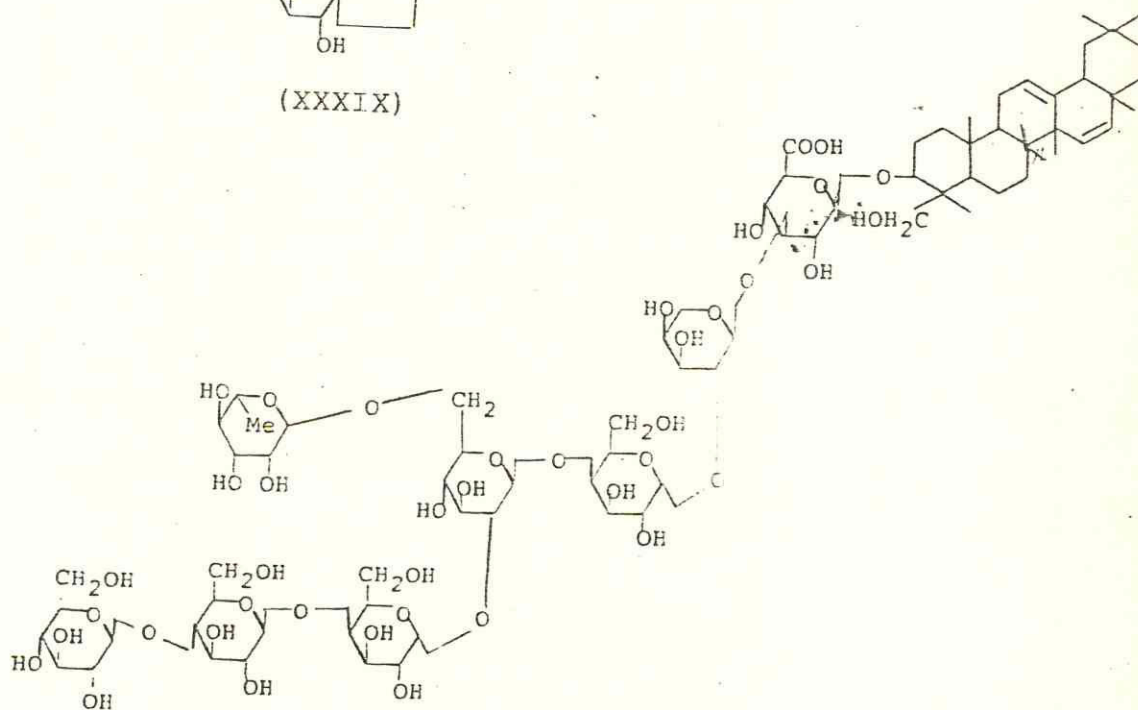
(XXVIII)



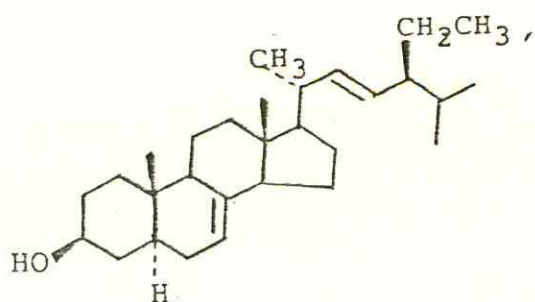
(XXXI) $R = \text{CH}_2\text{OH}$



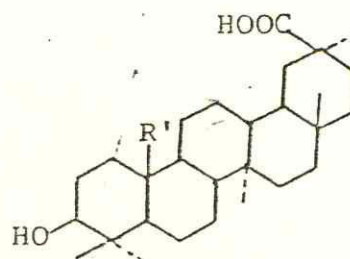
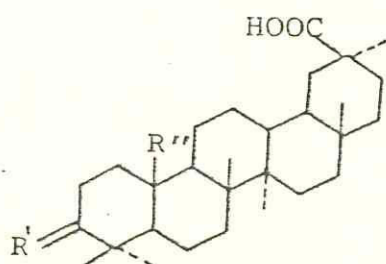
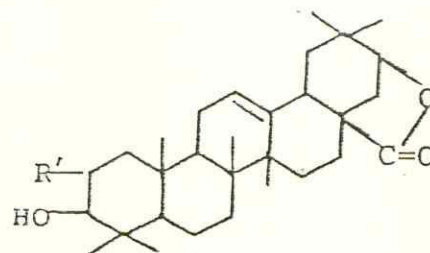
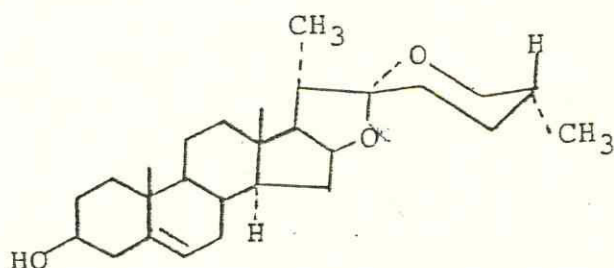
(XXXIX)



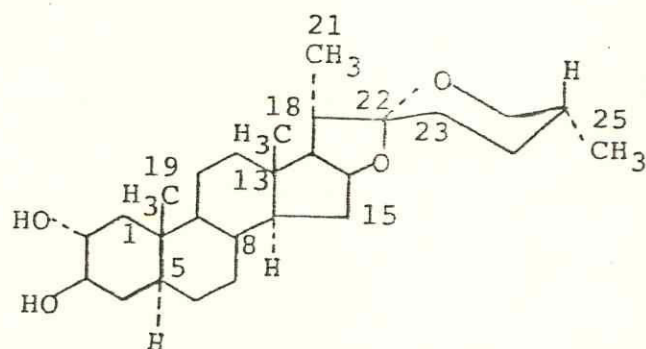
(XL)



(XXXII)

(XXXIII) $R' = \text{CHO}$; Δ^{18-19} (XXXIV) $R' = \text{CHO}$; Δ^{12-13} (XXXV) $R' = \text{CH}_2\text{OH}$; Δ^{18-19} (XXXVI) $R' = \text{CH}_2\text{OH}$; Δ^{12-13} (XXXVII) $R' = \text{O}$; $R'' = \text{CHO}$; Δ^{12-13} (XXXVIII) $R' = \text{O}$; $R'' = \text{CHO}$; Δ^{18-19} (XLI) $R' = \text{H}$ (XLII) $R' = \text{OH}$ ()

(XLI)



(XLIV)

3 - IMPORTÂNCIA DAS SAPONINAS

As saponinas são compostos resultantes do metabolismo secundário dos vegetais e formam um grupo particular de heterósidos⁷⁴. Embora o conceito acima só se refira a saponinas no reino vegetal, onde se encontram largamente distribuídas, hoje já se tem notícia de sua existência, embora rara em animais como estrelas do mar⁷⁵.

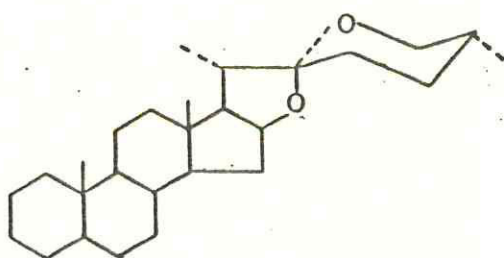
Quimicamente as saponinas são glicosídeos que fornecem após hidrólise uma ou mais unidades de açúcar e agliconas livres de açúcar que são derivadas de sistemas de anéis policíclicos e são designadas comumente sapogeninas¹⁰⁷.

O termo saponina provem do fato de possuírem propriedade afrogênica; isto é, formarem espuma abundante e característica quando agitadas em água, à semelhança do sabão^{74,76}. As soluções espumosas destes heterosídeos apresentam notável atividade emulsiva de óleos e outras substâncias sendo por isso utilizadas na preparação de agentes de limpeza⁷⁴. A produção destes estabilisadores de emulsão cujos resultados são comparáveis aos dos sais de ácidos graxos é atribuída a habilidade que as saponinas possuem de reduzir a tensão superficial de suas soluções aquosas^{74, 76, 77}.

Além da afrogenia, as saponinas podem ser hemolíticas, isto é destroem os glóbulos vermelhos por

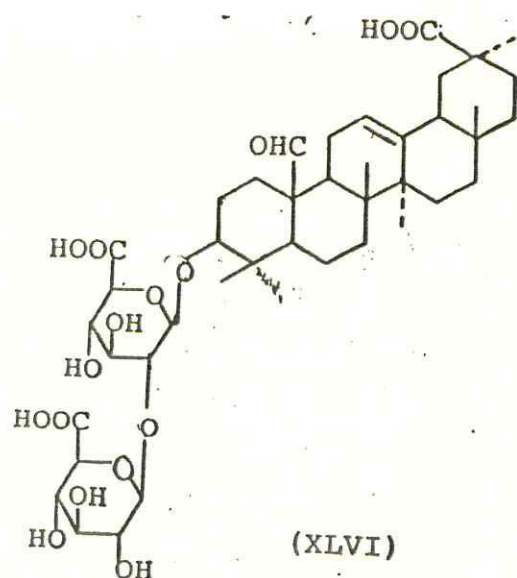
hemólise. Combinam-se com os esteróides e outros lipídios da membrana plasmática, aumentando-lhes a permeabilidade e consequentemente a sua destruição^{74, 76}.

As saponinas são constituídas de uma porção glicídica (mono ou oligossacarídico) chamada de glicona e uma não glicídica, aglicona ou sapogenina que pode ser esteroidal [XLV] ou triterpenoidal [II]⁷⁴. A atividade das saponinas está

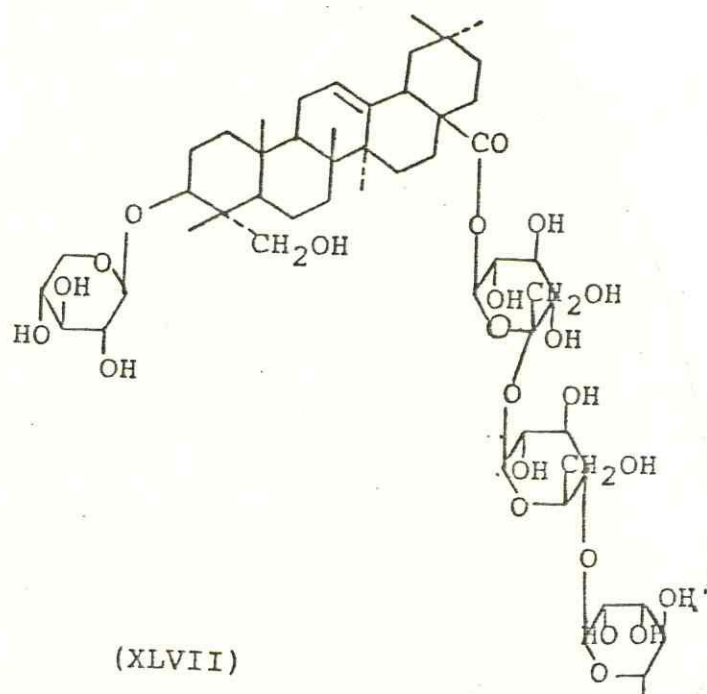


(XLV)

relacionada com a sua estrutura e mais particularmente com a natureza da sapogenina, as cadeias glicídicas apenas modificam estes valores quantitativamente^{74, 76}. As saponinas monodesmosídicas [XLVII], isto é, aquelas que possuem apenas uma cadeia glicídica ligada comumente no C-3 geralmente possuem várias características, isto é, são afrogênicas, hemolíticas, ictiotóxicas, bacteriostáticas, fungicidas e molucicidas^{49, 74}. As bisdesmosídicas [XLVIII] possuem propriedades que estão mais relacionadas com a tensão superficial de suas soluções, particularmente a afrogenia. As outras propriedades,

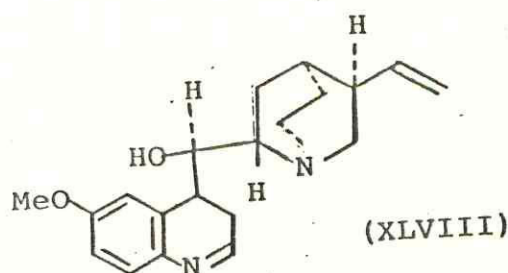


especialmente a hemolisante dos glóbulos vermelhos mostram-se em menor intensidade ou são praticamente inexistentes^{74, 76, 78}

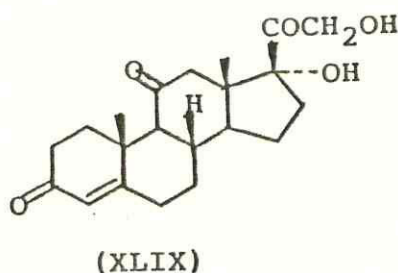


As saponinas podem apresentar sabor amargo e acre e

as drogas que as contêm são geralmente esternutatórias e irritantes das mucosas^{74, 76}. Aumentam a permeabilidade da parede celular favorecendo deste modo a absorção de substâncias pouco solúveis no trato gastro intestinal⁷⁶. Quando ingeridas em doses elevadas provocam vômitos e diarreia e em pequenas doses agem como expectorante⁷⁶. Algumas saponinas são utilizadas como adoçante natural e também como agente saporífero para mascarar o sabor amargo de certas drogas como a quinina (XLVIII)^{49, 50, 51, 76}. Comercialmente são adicionadas



a gomas de mascar, bombons de chocolate, cigarros, fumo para mascar e rapé. São também adicionadas a bebidas não alcoólicas e a cerveja para torná-la mais espumosa e saborosa. Além das inúmeras utilidades citadas, as saponinas são também precursores da cortisona [XLIX].



Este é o principal motivo pelo qual as instituições de investigação acadêmica, industrial e governamental estudam muitas espécies vegetais particularmente as que contêm saponinas esteroidais.

4 - PROPOSIÇÃO

O conhecimento não só da importância econômica das saponinas, como a sua utilização como precursor de substâncias medicamentosas e da sua farta abundância na família *Leguminosae*, levou-nos ao estudo fitoquímico da entrecasca de *Pithecolobium saman* Benth por se tratar de uma planta desta família rica em saponinas. No entanto as saponinas não são constituintes exclusivos da família *Leguminosae*. Elas são encontradas em outras famílias de plantas e isto levou-nos também ao estudo fitoquímico do pericarpo do fruto de *Sapindus saponaria* Linn que é uma planta da família *Sapindaceae* também rica em saponinas.

5 - CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE PITHECOLOBIUM SAMAN (JACQ) BENTH

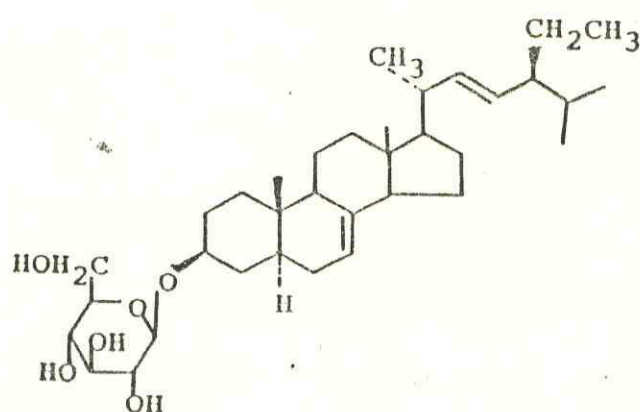
Árvore de grande porte com vasta copa. Folhas com 2 a 4 jugos de pinas, folíolos obovatos, ovato-oblongos ou suborbiculares dispostos em 6 a 8 pares. Flores dispostas em espigas capituliformes com longos pedúnculos axilares, frequentemente fasciculadas. Legume cilindráceo, coreáceo carnosso indeiscente.

Obs: Descrição fornecida pelo setor de botânica do Departamento de Biologia da UFC.

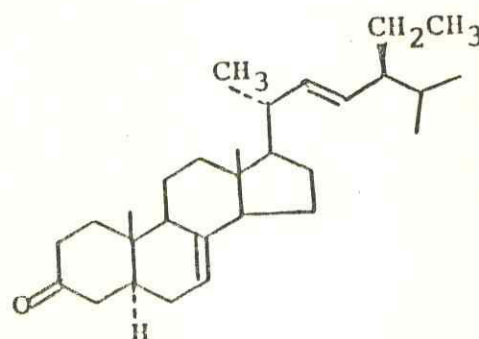
6 - CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE PITHECOLOBIUM SAMAN BENTH

Pithecolobium saman Benth é uma planta da família *Leguminosae*, comumente conhecida como bordão de velho. É uma árvore decídua que cresce em países tropicais^{56, 70}.

Inúmeros compostos foram encontrados em diferentes partes de *P. saman*. Na casca foi detectada a presença de: hexacosanol [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{CH}_2\text{OH}$], lupeol [IX], α -espinasterol [LIII], ácido octacosanoico [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{COOH}$], α -espinasterol- β -D-glucósido [L], α -espinasterona [LI]



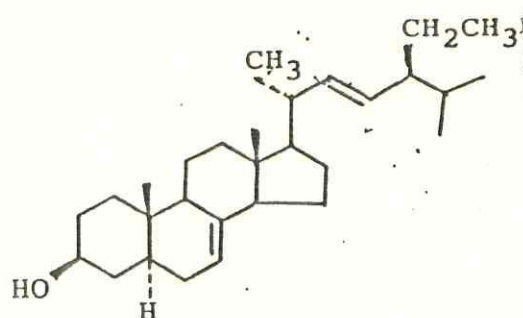
(L)



(LI)

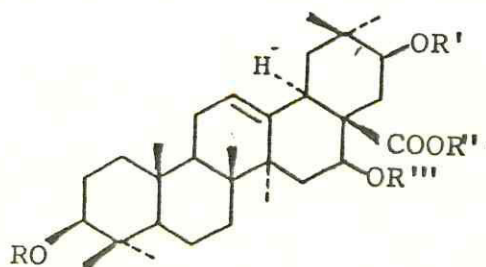
lupeonona e uma saponina, samanina E [LIIII]^{56, 57, 59}. Nas folhas: hentriacontano [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{29}\text{CH}_3$], octacosanol [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{CH}_2\text{OH}$], e alcalóides; na amêndoa da semente: α -espinasterol [LIII], α -espinasterol- β -D-glucosídeo [L], ácido palmítico [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$] e ácido esteárico [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$]; no cerne: α -espinasterol [LIII], ácido octacosanoico

$[CH_2(CH_2)_2COOH]$ e na casca da semente uma mistura de flavonóides^{56, 57}. Nas sementes foram encontradas além de



(LII)

várias oses, samanina A [LIV] e samanina B [LV]^{56, 57}. Da madeira foi isolada samanina C [LVI] e das flores samanina D [LVII]^{58, 59}. Todas as caponinas, samaninas A, B, C, D, e E relatadas em *Pithecolobium saman* são heterosídeos do ácido acácico [V] contudo sem esclarecimento quanto a sequência das oses que constituem as respectivas gliconas^{56, 57, 58, 59}.



[LV] $R = R' = R'' = R''' = H$

[LIIII] $R'' = H$; $R + R' + R''' = \text{galactose} + \text{glicose} + \text{xilose} + \text{fucose} + \text{ramnose} (2:6:2:1:2)$

[LIV] $R'' = H$; $R + R' + R''' = \text{glicose} + \text{arabinose} + \text{xilose} + \text{ramnose} (3:4:2:6)$

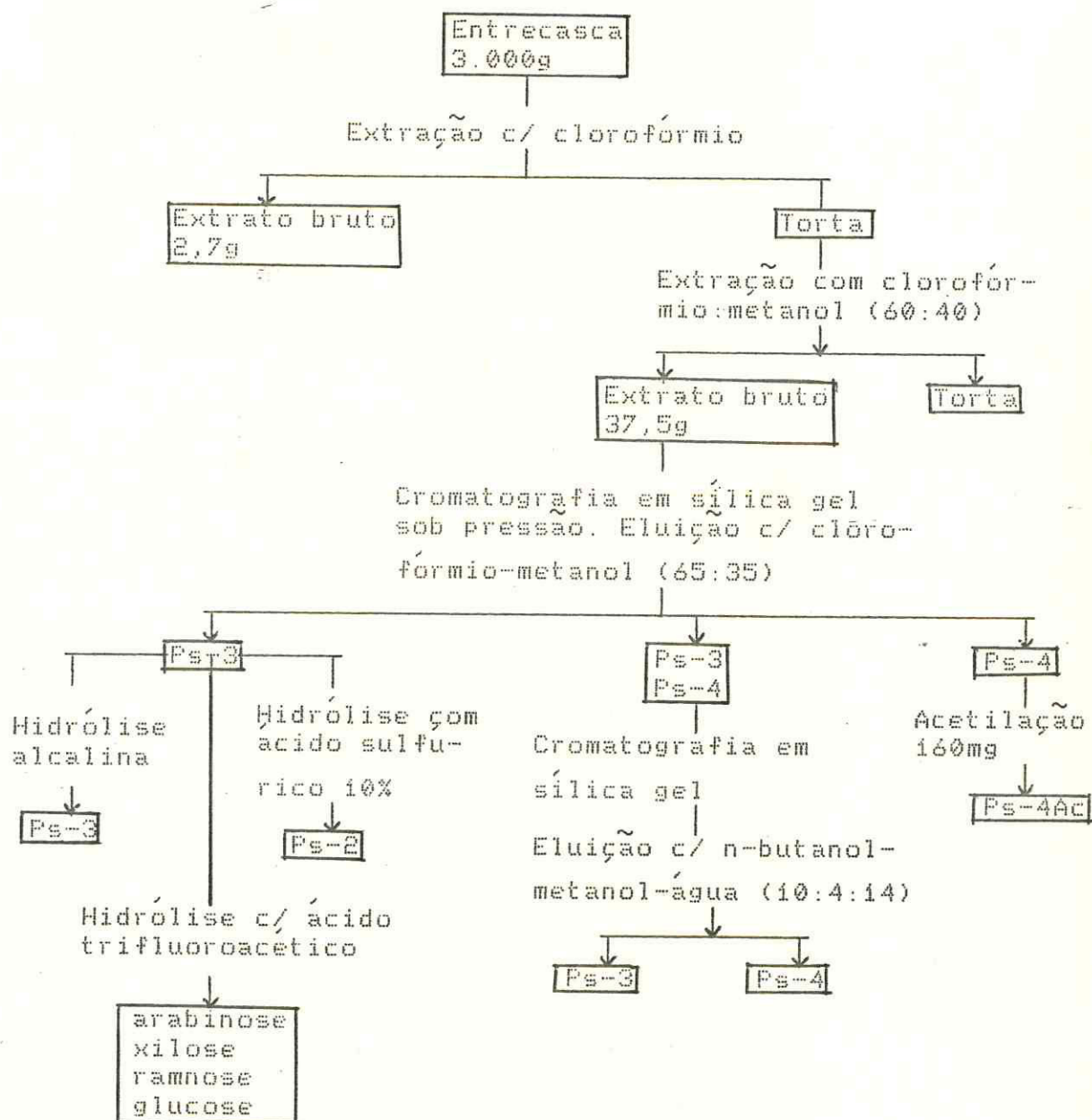
[LV] $R'' = H$; $R + R' + R''' = \text{glicose} + \text{arabinose} + \text{xilose} + \text{ramnose} (4:2:1:1)$

[LVI] $R''' = H$; $R'' = \text{glicose} + \text{xilose} + \text{ramnose} (1:1:2)$

$R + R' = \text{glicose} + \text{arbinose} + \text{xilose} + \text{fucose} + \text{ramnose} (5:1:1:3:2)$

[LVII] $R''' = H$; $R + R' + R'' = \text{glicose} + \text{arabinose} + \text{xilose} + \text{ramnose} (5:4:3:1)$

7 - ESQUEMA 1 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE PITHECOLOBIUM SAMAN BENTH



8 - DISCUSSÃO SOBRE A DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE PITHECOLOBIUM SAMAN BENTH

A entrecasca de *Pithecolobium saman*, (3.000g) foi extraída a frio, com cloroformio resultando em quantidade de de material insuficiente para cromatografia.

A entrecasca foi então extraída com cloroformio:metanol, produzindo um resíduo pastoso. Este material cromatografado em coluna usando como adsorvente sílica gel forneceu frações parcialmente puras das quais foram isoladas três substâncias identificadas posteriormente como um glicosídeo triterpenoidal (Ps-3) e sacarose (Ps-4) de acordo com o ESQUEMA 1.

7.1 - Ps-2

O glicosídeo triterpenoidal (Ps-3) de *P. saman* apresentou espuma abundante quando agitado com água e mostrou no I.R. a presença de hidroxila a 3400cm^{-1} e carboxila a 1710cm^{-1} . A sua hidrólise com solução aquosa de ácido sulfúrico a 10% forneceu uma substância que foi denominada de Ps-2. Esta substância foi purificada por cristalização em metanol:cloroformio e deu teste positivo de LIEBERMAN BURCHARD, para sapogeninas triterpenoidais.

A análise do espectro de RMR ^1H a 300MHz (Fig. 1) apresentou absorções de apenas um próton olefínico em 5,28 δ (t, $J = 3,3\text{Hz}$); um próton carbinólico, em 3,22 δ (dd, $J = 10,4$ e $5,1\text{Hz}$) e um próton metínico em 2,82 δ (dd, $J = 13,9$ e $3,6\text{Hz}$) relativos ao H-3 axial e H-18 também axial comumente encontrados em triterpenóides pentacíclicos da série oleano Δ^{12} -insaturados^{49, 50, 80}. Fora estes sinais foi também observada a presença de sete singletes a 1,13, 0,99, 0,93, 0,92, 0,90, 0,77 e 0,75 δ indicados para metilas terciárias mostrando que um dos oito grupos metila do triterpenóide pentacíclico teria sido convertido biogeneticamente a outro grupo^{49, 50, 81}.

O espectro de massas de Ps-2 (Figura 1a) apresentou fragmentação característica dos compostos da série oleano Δ^{12} -insaturados indicada pela reação retro-Diels-Álder do anel C (Quadro 1)⁸². A presença da carboxila nos anéis D/E foi evidenciada pela fragmentação de m/z 248 com a saída de 45 u.m.a., originando o pico m/z 203 (pico base). Esta fragmentação mostrou claramente que o grupo metila convertido biogeneticamente foi oxidado a ácido. Também a perda de 18 e 17 u.m.a. do fragmento m/z 208 produzindo m/z 190 e m/z 191 respectivamente está condizente com a existência de hidroxila nos anéis A/B comumente encontrada no C-3 de triterpenóides pentacíclicos⁸².

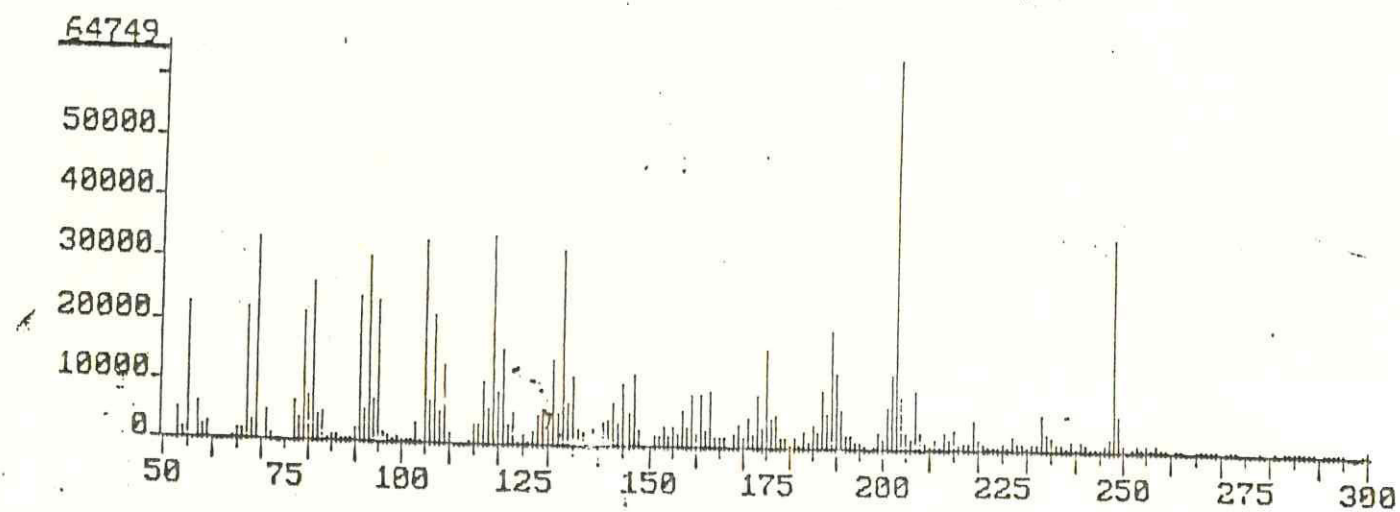
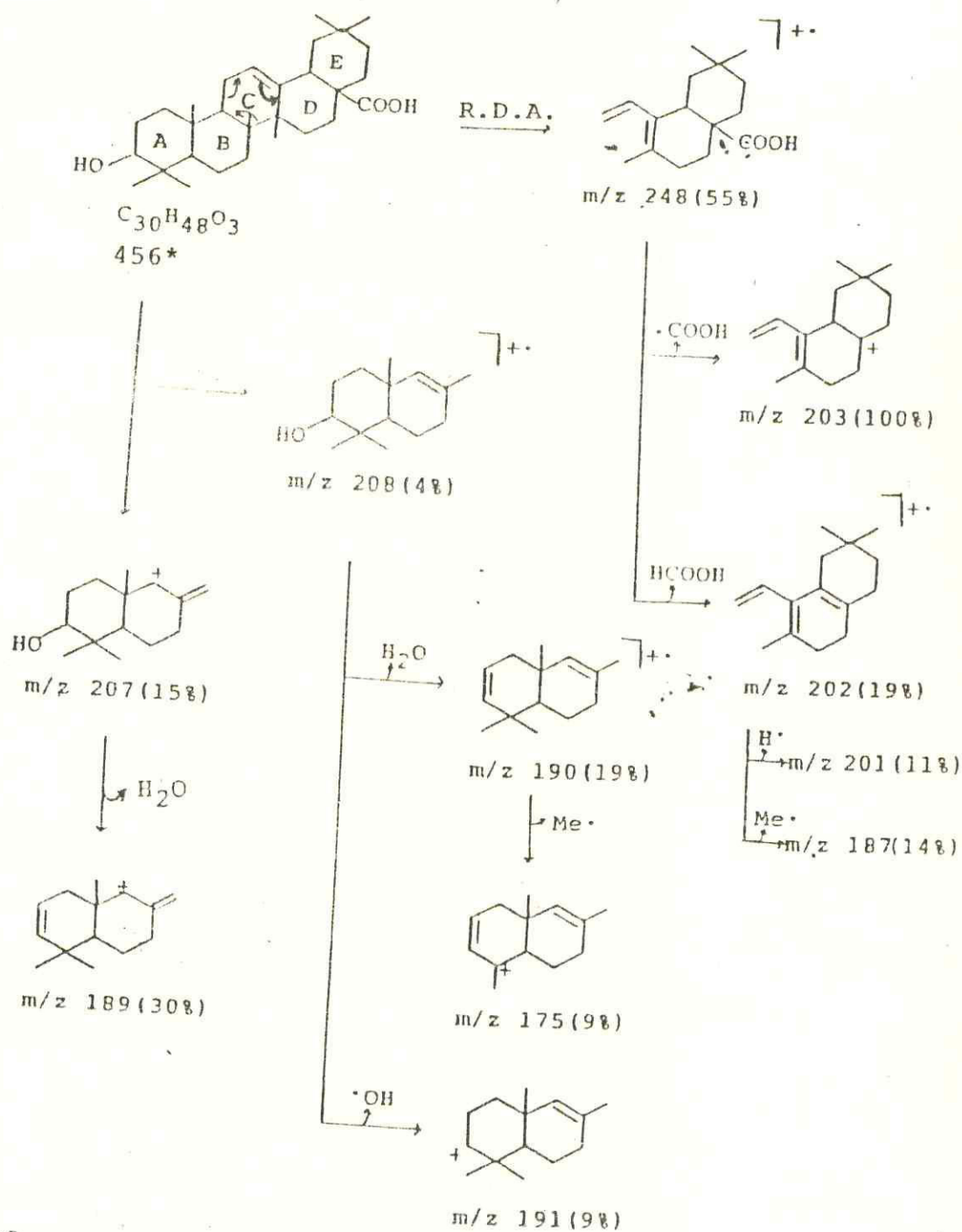


FIGURA - 1a - Espectro de massas de Ps-2

QUADRO 1 - Fragmentação proposta para Ps-2



*Não registrado

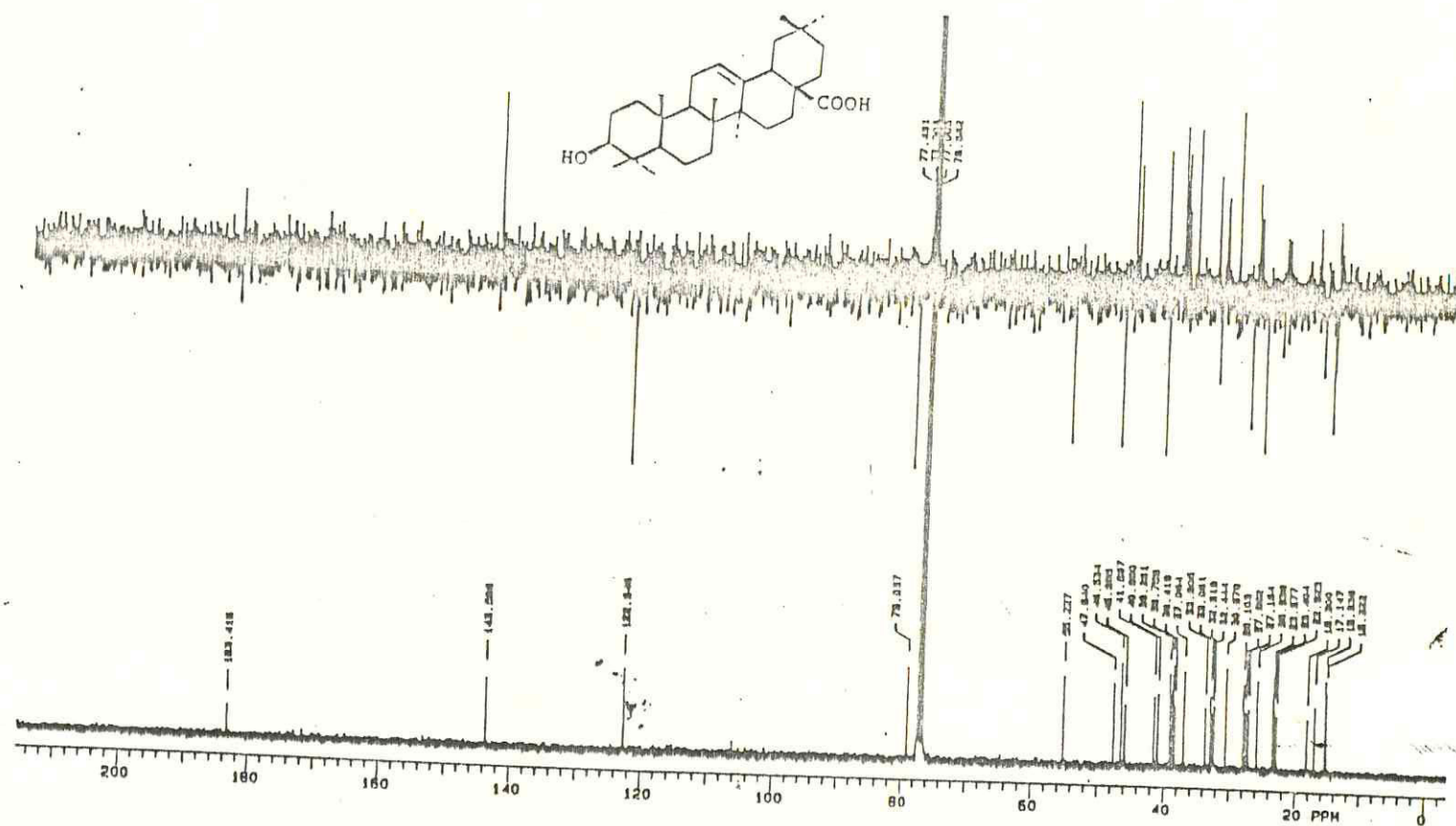
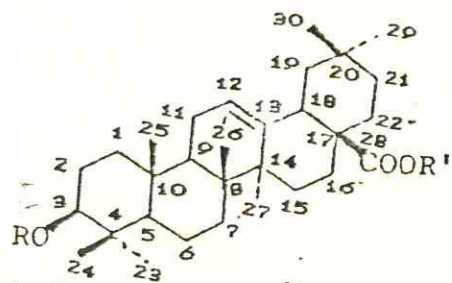


FIGURA - 2 - Espectro de RMN ^{13}C de Ps - 2 (ácido oleanólico) .
(valor δ - CDCl_3 , 75 MHz)

O espectro de RMN ^{13}C mostrou a presença de 30 átomos de carbonos (Fig. 2) confirmando a estrutura triterpenoidal pentacíclica para Ps-2. Na análise do espectro observou-se a presença de uma absorção em 183,41 δ atribuída a carbonila de carboxila em C-28 razão porque se encontra em campo mais baixo do que o correspondente C-28 dos modelos⁸⁹ (Tab. 2); as absorções a 143,59 e 122,64 δ indicadas respectivamente para os carbonos C-13 e C-12 da insaturação; o sinal a 79,03 δ atribuído ao C-3 no qual se encontra fixada uma hidroxila equatorial já indicada pelo RMN ^1H e pelo EM; mais as absorções a 33,06, 28,10, 25,94, 23,57, 17,14, 15,54 e 15,32 δ são atribuídas aos grupos metila mencionados no RMN ^1H . Vale ressaltar que todos os carbonos protonados foram confirmados pelo DEPT6L (Fig. 3). Por fim a comparação com o RMN ^{13}C do oleanolato de metila com o RMN ^{13}C de Ps-2 (Tab. 2) nos levou a indicar a estrutura do ácido oleanólico (ácido 3β -hidroxi-olean-12(13)-en-28-óico) para Ps-2.⁸⁹

Vale salientar que apesar do ácido oleanólico ser uma substância bastante conhecida não existe nenhum registro na literatura da presença desta substância na espécie em estudo seja na forma de heterosídeo ou triterpenoidal livre



Mod. 1 - R = H; R' = Me

Ps-2 - R = R' = H

Mod. 2 - R = Ac; R' = Me

Ps-2MeAc - R = Ac; R' = Me

TABELA 2 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (oleanolato de metila)⁶⁹, Ps-2, Mod. 2 (oleanolato de metila acetilado)⁶⁹, e Ps-2MeAc

C	Mod. 1	Ps-2	Mod. 2	Ps-2MeAc
1	38,1	38,41	38,1	38,13
2	27,1	27,18	23,6	23,53
3	78,7	79,04	80,7	80,93
4	38,7	38,76	37,5	37,69
5	55,2	55,23	55,2	55,32
6	18,3	18,30	18,2	18,22
7	32,6	32,62	32,6	32,62
8	39,3	39,28	39,3	39,31
9	47,6	47,64	47,5	47,57
10	37,0	37,09	36,9	36,94
11	23,1	22,92	23,0	23,08
12	122,1	122,64	122,1	122,28
13	143,4	143,59	143,6	143,80
14	41,6	41,59	41,6	41,65
15	27,7	27,69	27,7	27,79
16	23,4	23,40	23,6	23,41
17	46,6	46,53	46,6	46,73
18	41,3	40,98	41,3	42,32
19	45,8	45,88	45,8	45,86
20	30,6	30,67	30,6	30,68
21	33,8	33,80	33,8	33,87
22	32,3	32,44	32,3	32,39
23	28,1	28,10	28,0	28,04
24	15,6	15,54	16,8	16,83 ^a
25	15,3	15,32	15,3	15,35
26	16,8	17,14	16,8	16,67 ^a
27	26,0	25,94	25,8	25,89
28	177,9	183,42	177,8	178,27
29	33,1	33,06	33,1	33,09
30	23,6	23,57	23,6	23,63
CO ₂ Me	51,3		51,4	51,49
CO ₂ Me			170,5	170,96
COMe				21,28

7.1.1 - Ps-2MeAc

A fim de comprovar a estrutura de Ps-2 foi preparado seu derivado metilado e acetilado denominado Ps-2MeAc que teve sua estrutura confirmada usando-se técnicas usuais. Ps-2MeAc apresentou-se como sólido de cor branca com Rf. 0,70 e pf. 208-210°C.

O espectro no I.V. (Fig. 4) apresentou a absorção de carbonila de éster em 1738cm^{-1} além da absorção em 1225cm^{-1} atribuída a estiramento C-O.

O espectro de RMN ^1H (Fig. 5), apresentou-se semelhante ao de Ps-2 com acréscimo das absorções em 3,61 δ (s) correspondente a uma metoxila e 2,04 δ (s) relativa ao grupo $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$, ambas absorções confirmando a existência de grupos carbonila e hidroxila no composto originário^{49,51}. Foi observada também a absorção relativa ao H-3 em 4,44 (dd, J = 9,0 e 3,6Hz).

O espectro de massas de Ps-2MeAc (Figura 2a), como era esperado apresentou fragmentação similar a Ps-2. As respectivas fragmentações confirmam mais uma vez a localização da carboxila nos anéis D/E comumente fixada no C-17 e hidroxila nos anéis A/B⁸² (Quadro 2).

A análise comparativa do espectro de RMN ^{13}C de Ps-2MeAc (Fig. 6) com o de Ps-2 mostrou claramente a absorção a

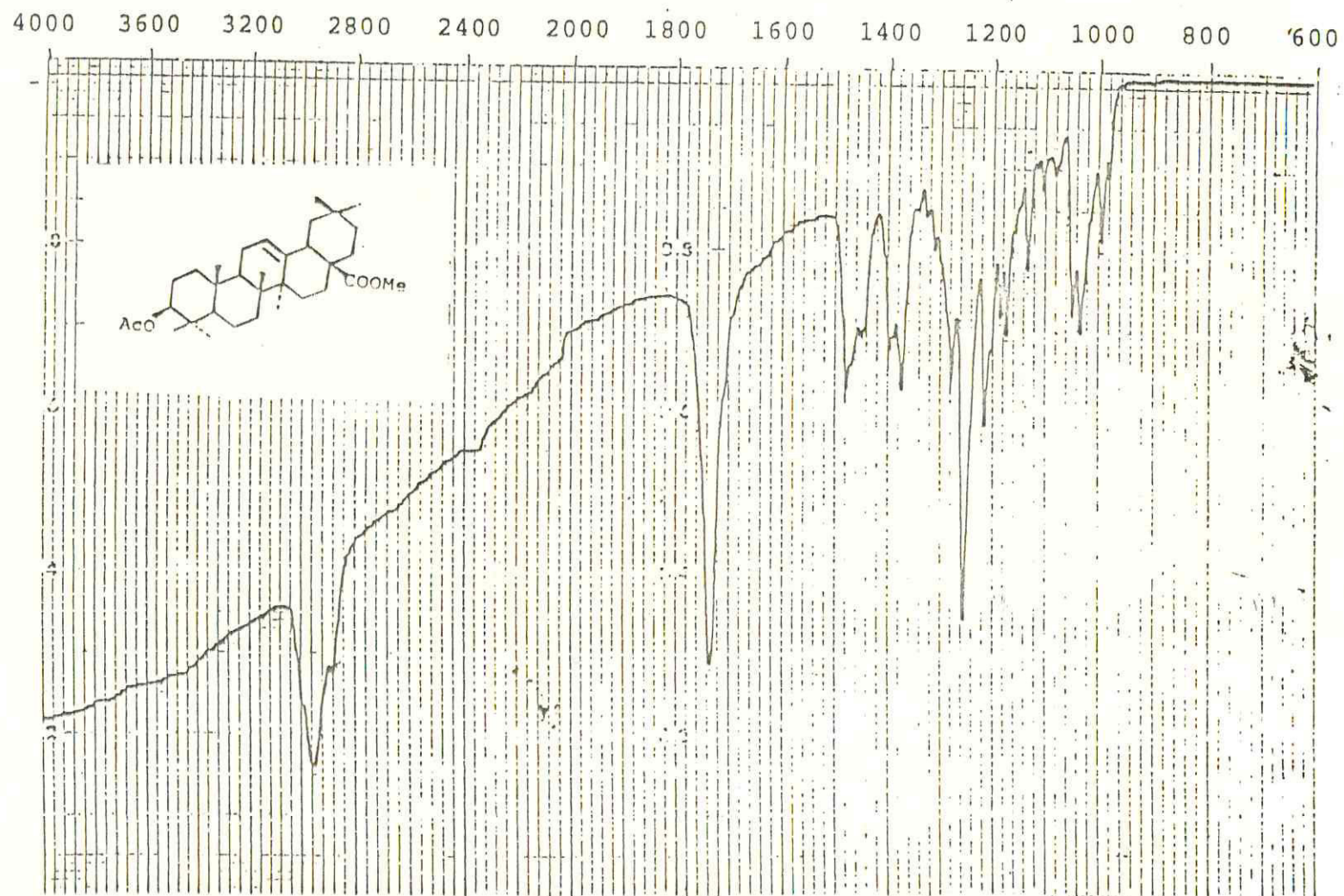


FIGURA - 4 - Espectro I.V. de Ps-2 MeAc
FASE: KBr

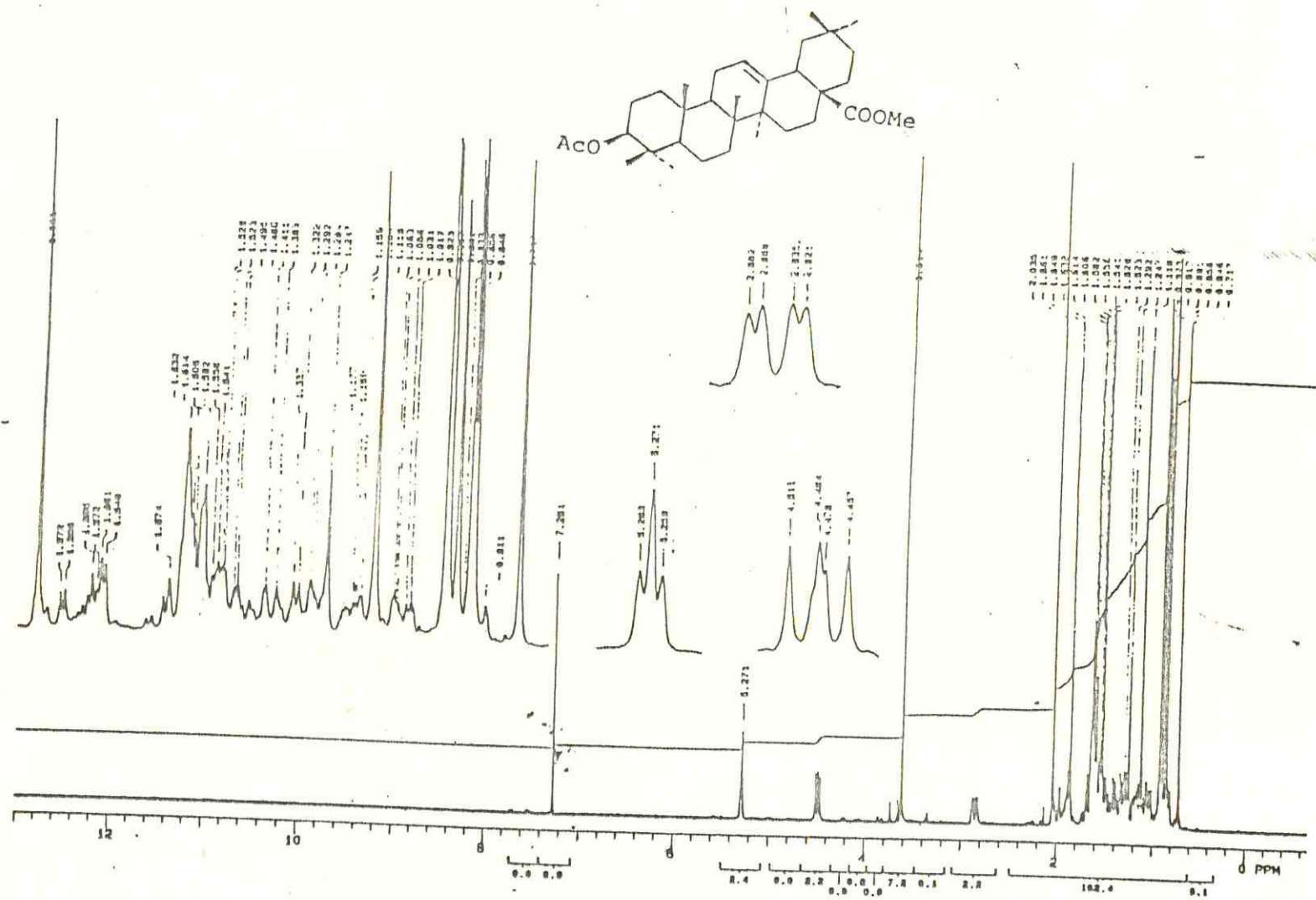


FIGURA - 5 - Espectro de RMN^1H de Ps-2 MeAc
(valor 5 - CDCl_3 , 300MHz)

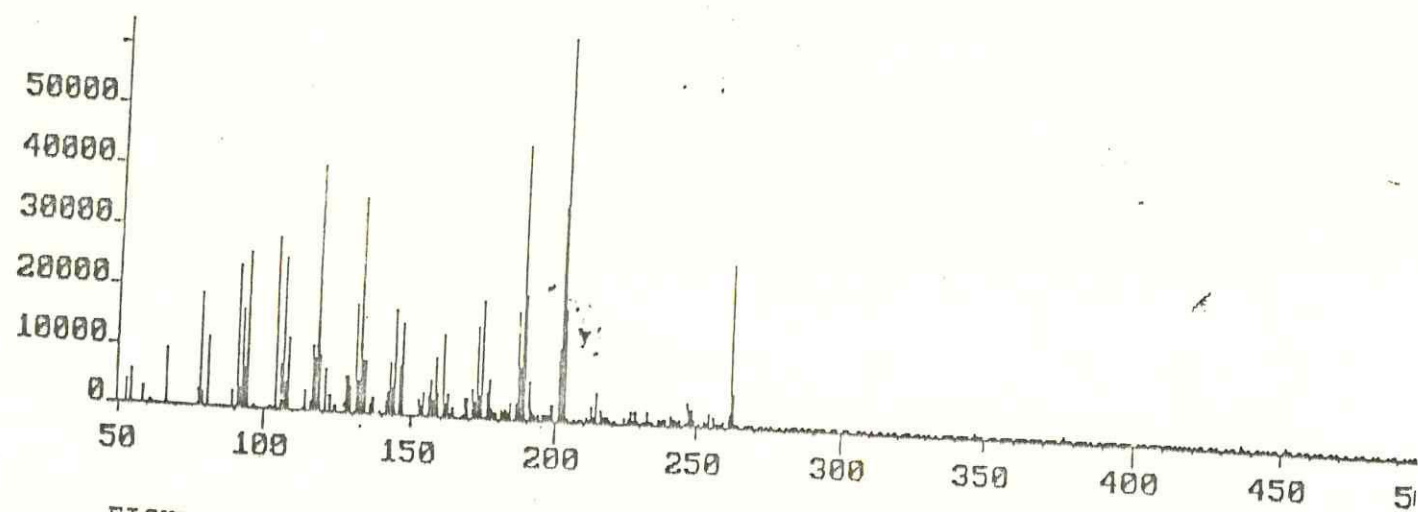
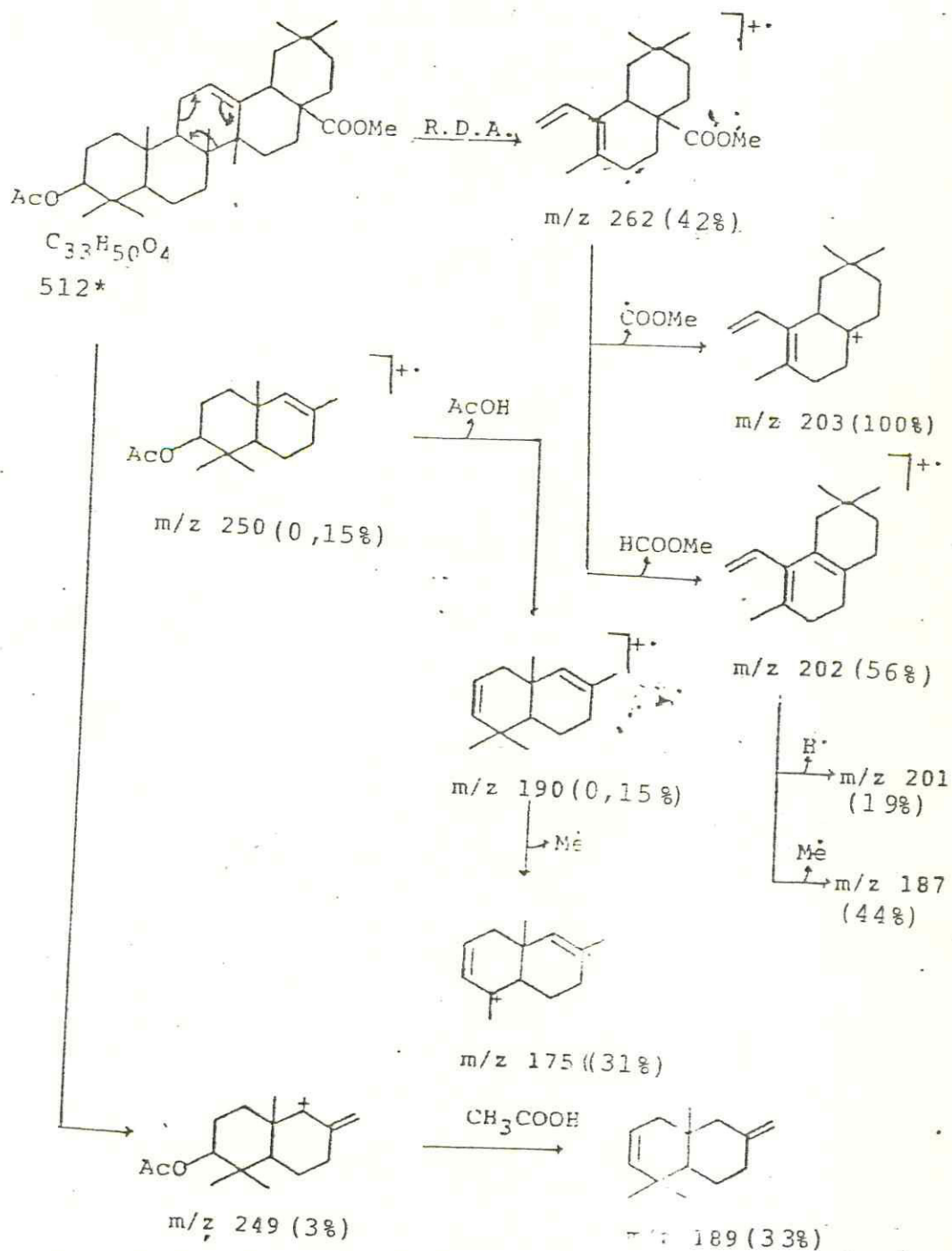


FIGURA - 2a - Espectro de massas de Ps-2MeAc

QUADRO 2 - Fragmentação proposta para Ps-2MeAc



* Não registrado

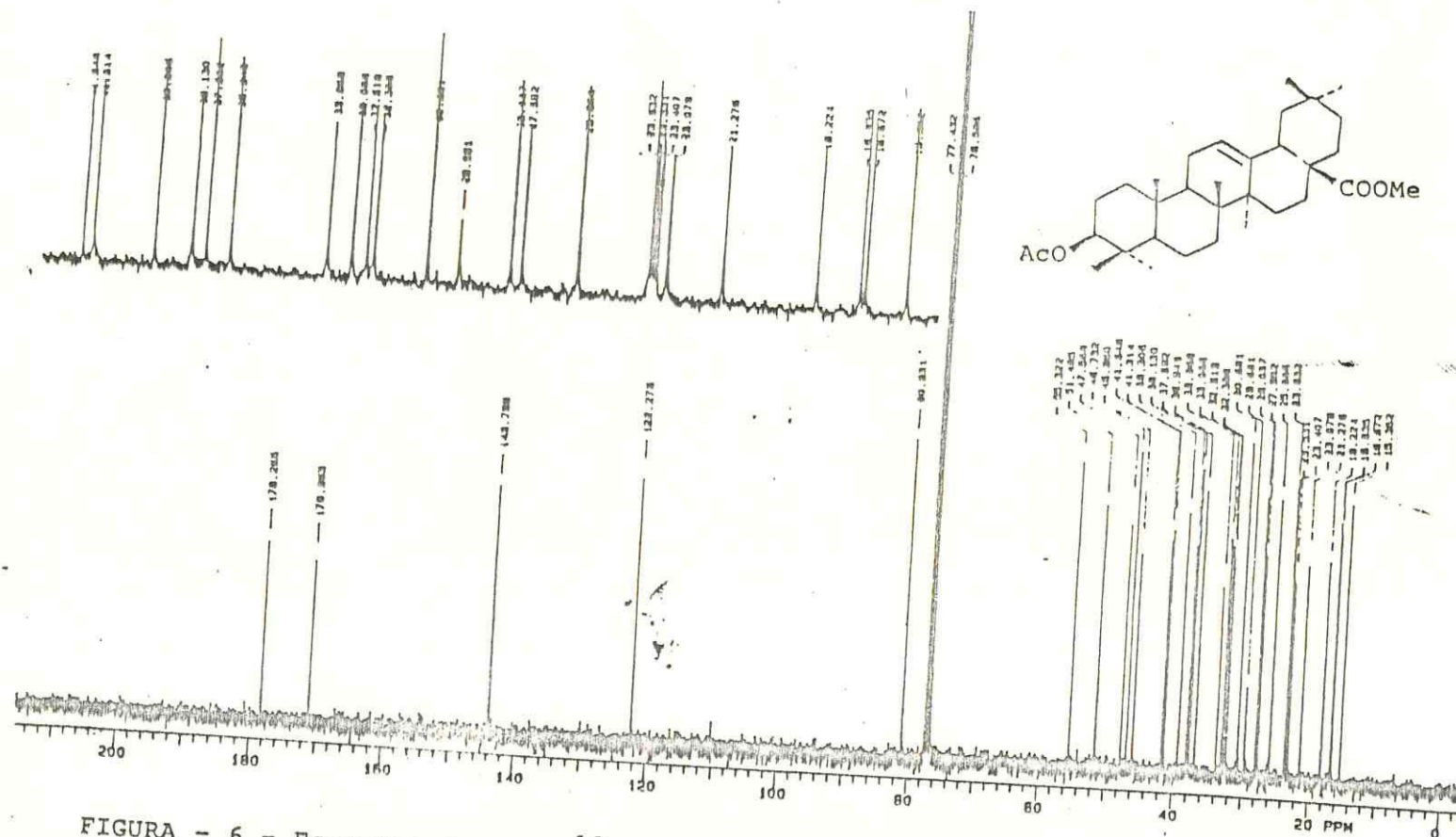


FIGURA - 6 - Espectro de RMN ^{13}C de Ps-2MeAc
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75 MHz)

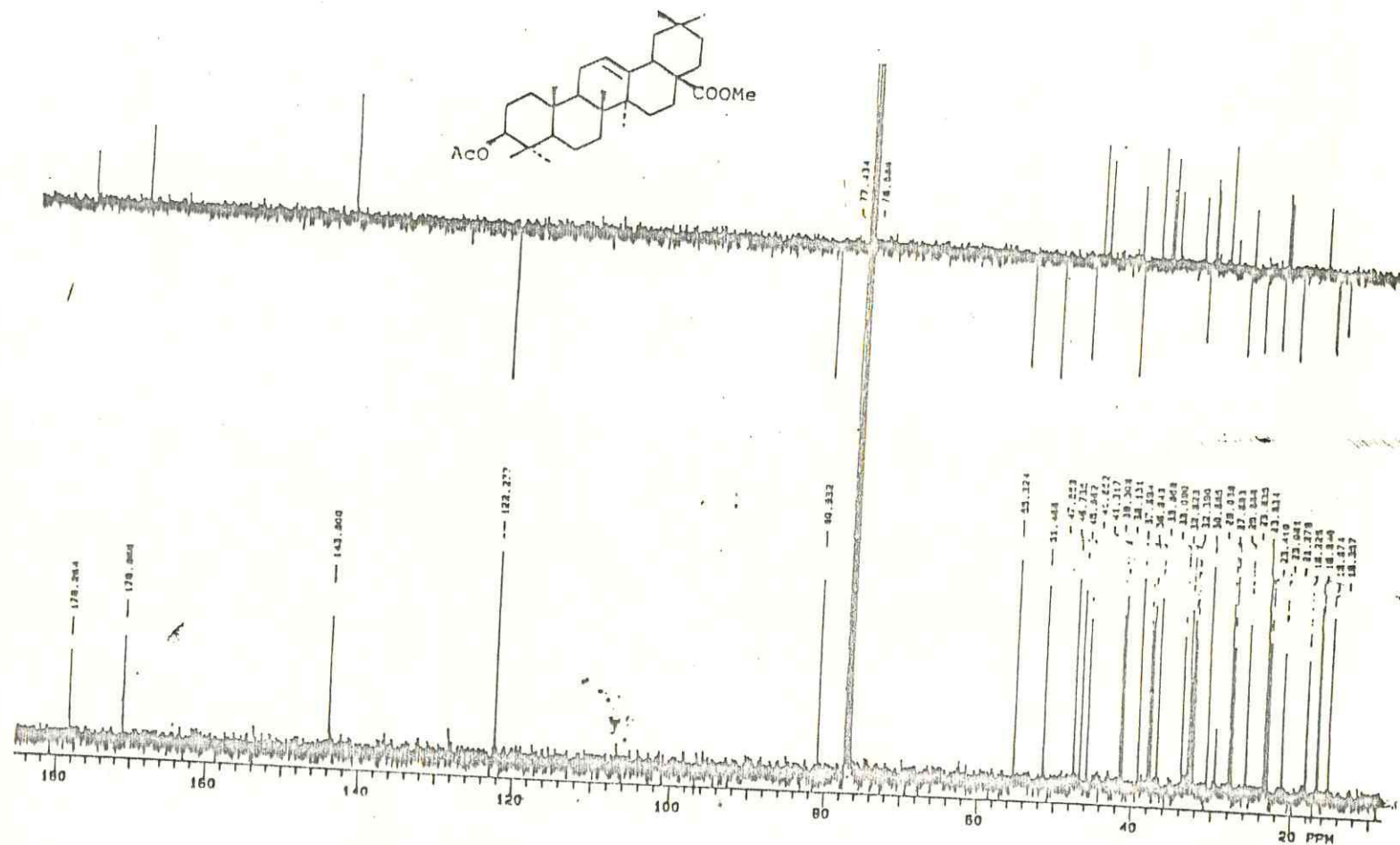


FIGURA - 7 - Espectro RMN ^{13}C (APT) de Ps-2MeAc
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

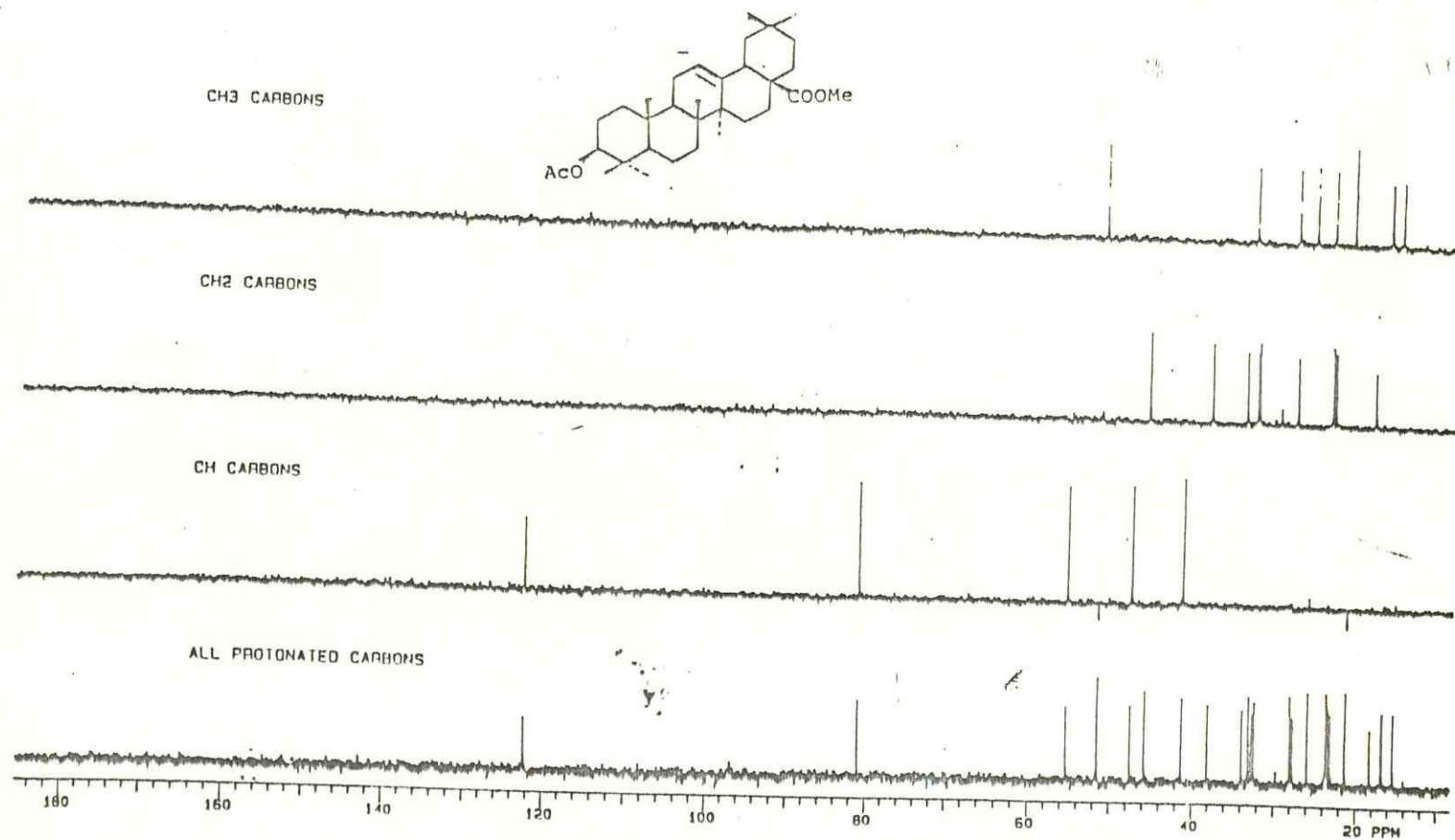


FIGURA - 8 - Espectro de RMN ¹³C (DEPTGL) de Ps-2MeAc
(valor δ-CDCl₃, 75MHz).

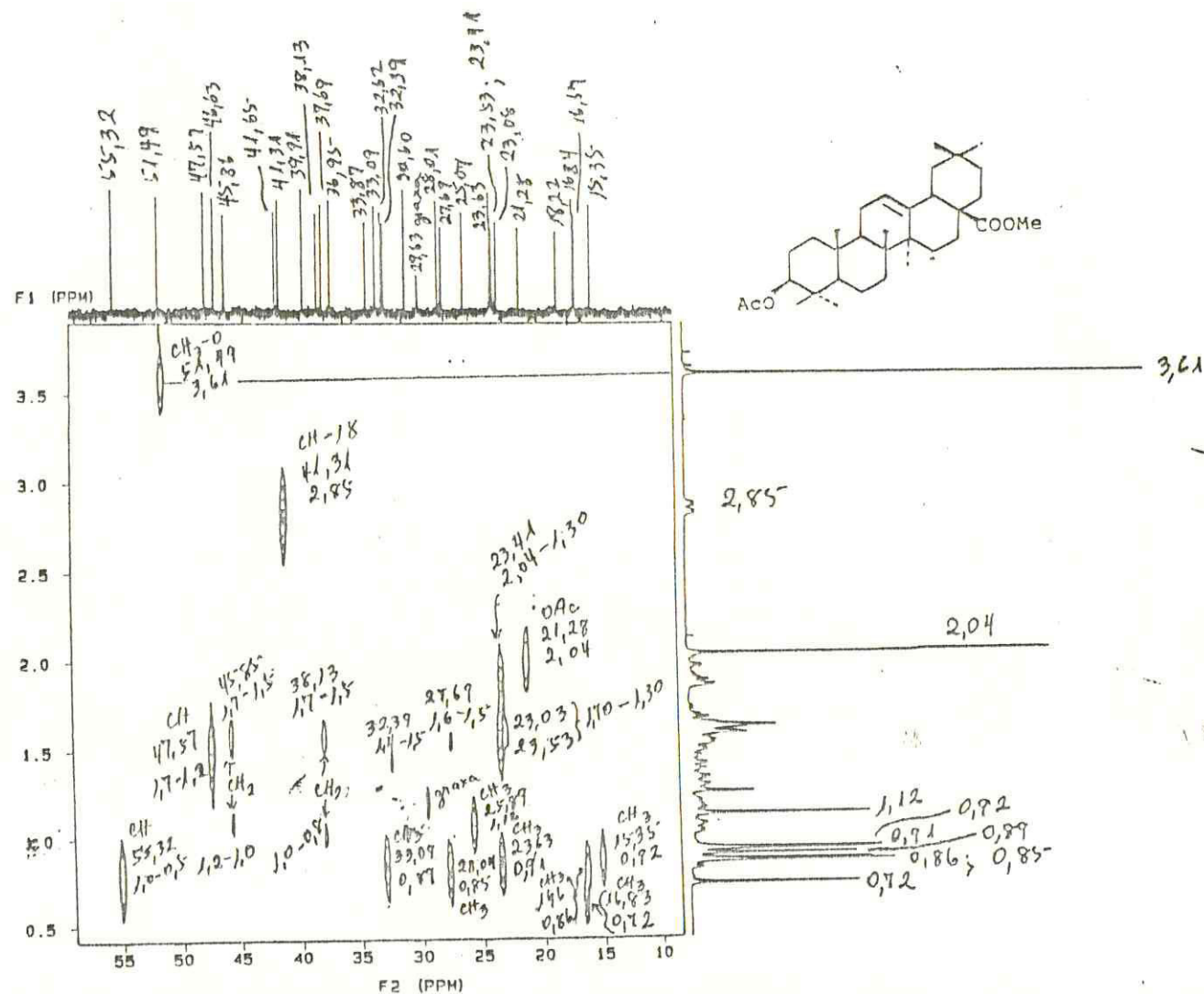


FIGURA 9 - Espectro em 2D, ^{13}C - ^1H (HETCOR) de Ps-2MeAc
(valor δ -CDCl₃)

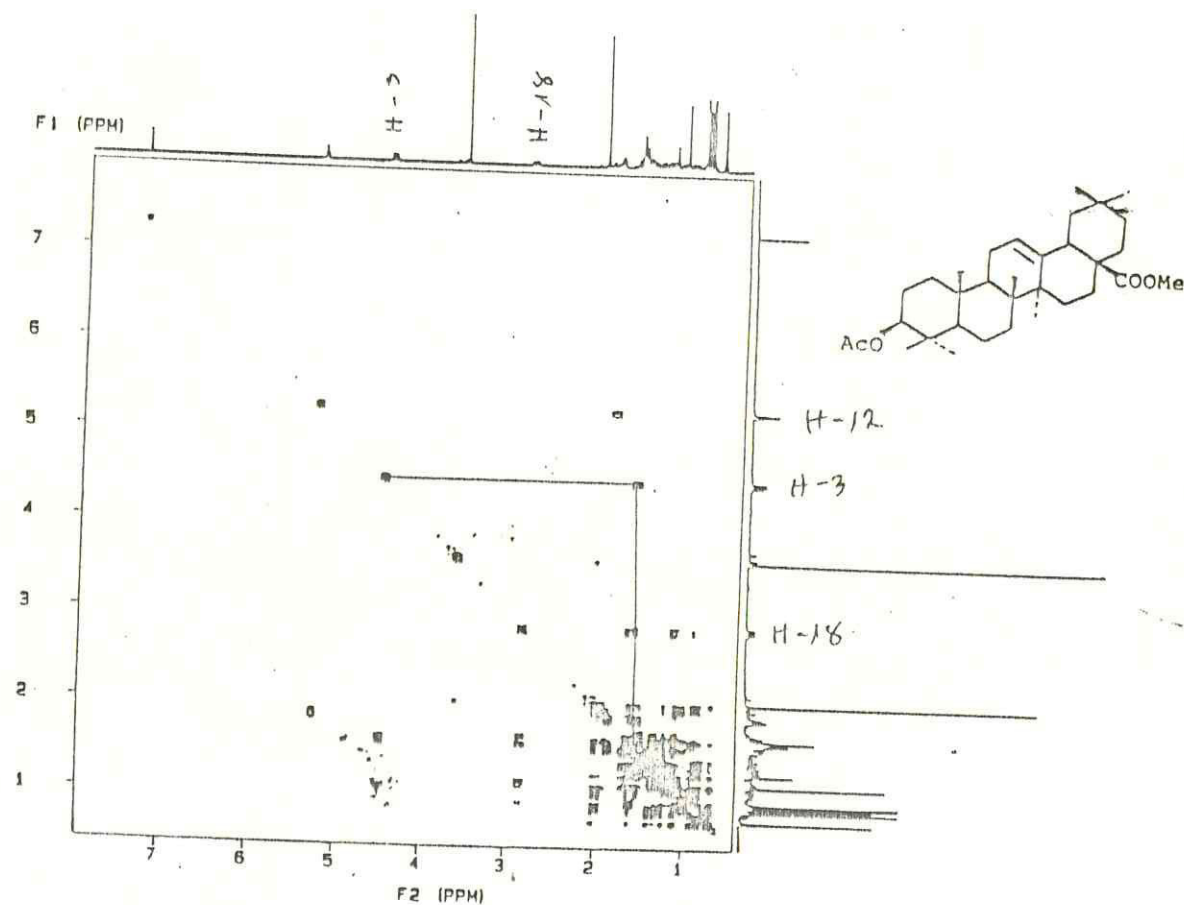
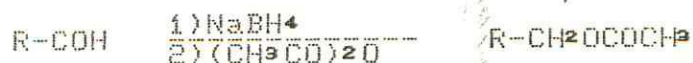


FIGURA - 10 - Espectro em 2D, ^1H - ^1H (COSY) de Ps-2MeAc
(valor δ - CDCl_3)

178,27 δ atribuída a carbonila do C-28 em campo mais alto que em Ps-2, confirmando a metilação do material de partida, uma absorção a 170,96 δ atribuída a carbonila de acetato fixada no C-3 resultante da acetilação e mais absorções a 51,49 e 21,28 δ correspondentes respectivamente ao grupo $\text{CH}_2\text{-O}$ e ao grupo $\text{CH}_3\text{C=O}$ como era esperado. As evidências descritas, a comparação com o espectro de RMN ^{13}C do oleanolato de metila acetilado⁸³ (Mod. 2, Tab. 2) acrescidas das informações fornecidas pelo APT (Fig. 7), DEPTGL (Fig. 8) e os métodos modernos de espectroscopia bidimensional tais como ^1H - ^{13}C COSY (Fig. 10) e ^{13}C - ^1H HETCOR (Fig. 9) onde podem ser visualizadas várias correlações entre elas as absorções no RMN ^{13}C em 51,49 δ (OCH_3), 41,31 δ (C-18) e 21,28 δ (COMe) correspondentes às absorções no RMN ^1H em 3,61 (s, OCH_3), 2,85 (dd, $J = 14,1$ e 4,2 Hz) e 2,04 (s, OCOCH_3) respectivamente, de Ps-2MeAc nos levou a confirmar sua estrutura como sendo a do oleanolato de metila acetilado.

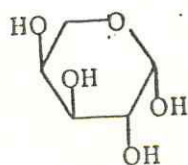
7.1.2 - Identificação das Oses em Ps-3

A hidrólise do composto Ps-3 foi feita com o objetivo de identificar as oses presentes tendo sido efetuada com ácido trifluoroacético 4N. Parte deste material hidrolisado foi submetido a cromatografia em camada delgada e cromatografia em papel, a outra porção foi transformada nos respectivos alditóis acetilados por reação de redução (reação 1) com boroidreto de sódio, seguido de acetilação (reação 2) com anidrido acético em

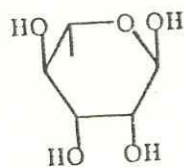


piridina. O material resultante foi submetido a CGL acoplado a EM.

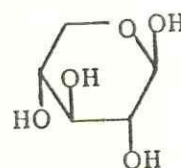
Na cromatografia em camada delgada utilizou-se como eluente o "sistema A" [isopropanol:acetato de etila:água (7:2:1)] e acetato de etila (1.25:1.75) e revelador, orcinol sulfúrico observando-se a presença de quatro oses. Cromatografia comparativa em camada delgada com o auxílio de padrões levou à identificação das oses como sendo, arabinose [LIIII], xilose [LIV], ramnose [LV] e glicose [LVI], cujos Rf. foram 0.23, 0.39, 0.64 e 0.11 respectivamente.



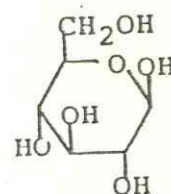
(LIIII)



(LV)



(LIV)



(LVI)

A cromatografia em papel com o auxílio de padrões.

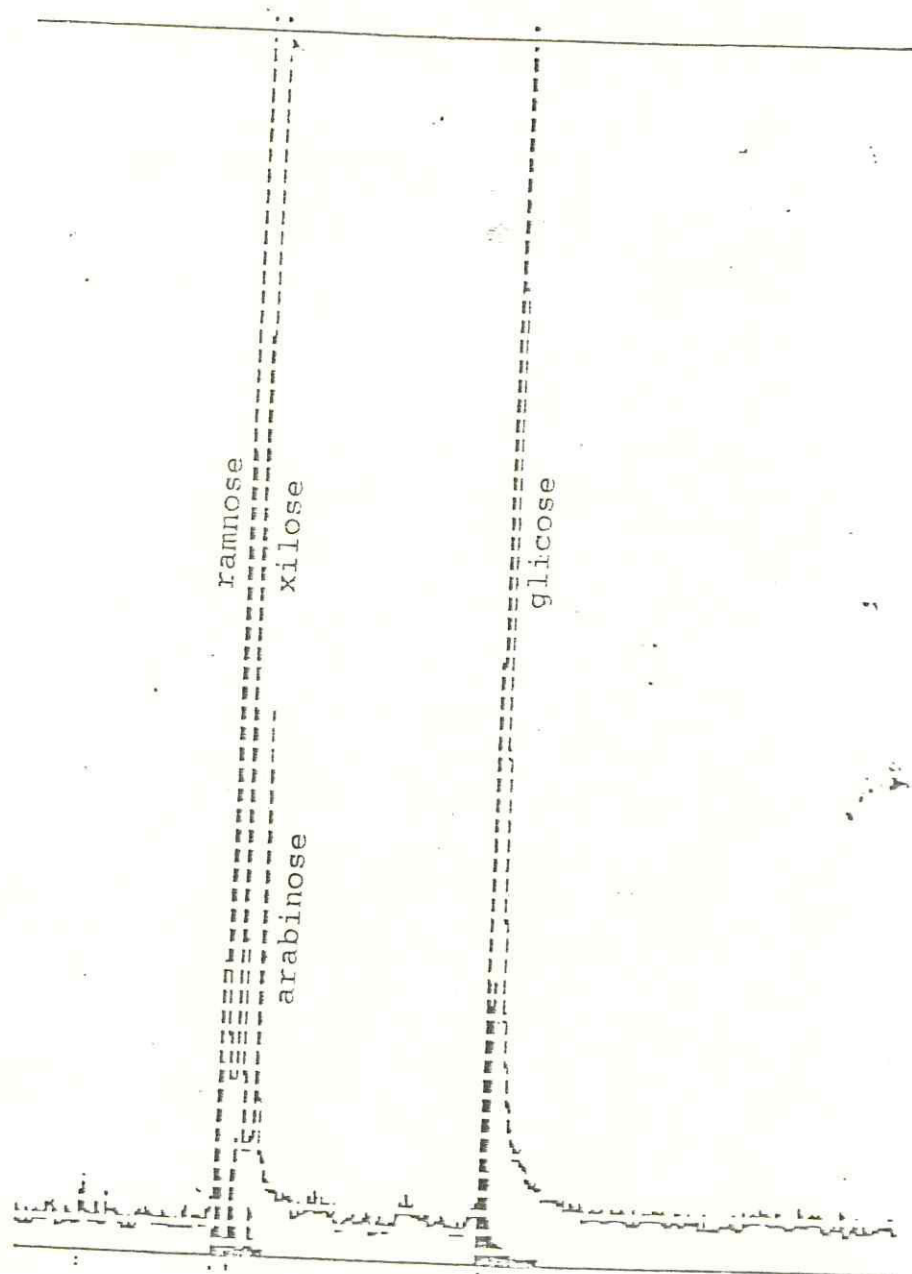


FIGURA 11 - Cromatograma das oses de
Ps-3 sob a forma de ace-
tatos de alditóis.
T 300°C

TABELA 3 - Dados de CGL-MS relativos aos acetatos de alditois das oses de Ps-3

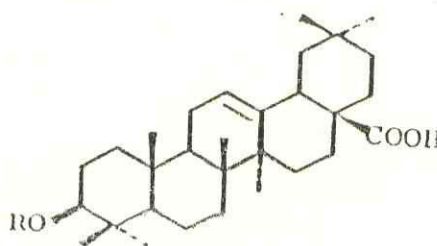
Alditol-Ac	Tempo de retenção	Abundância relativa	Abundância total	Pico base
Ram-ol-Ac	21,40	60,0%	7.362	168,60
Xil-ol-Ac	21,68	39,2%	4.804	215,75
Ara-ol-Ac	21,94	12,0%	1.474	215,75
Gli-ol-Ac	25,66	100,0%	12.268	215,75

TABELA 4 - Dados de CGL-MS relativos aos acetatos de alditois dos padrões

Alditol-Ac	Tempo de retenção	Pico base
Ram-ol-Ac	21,16	168,60
Xil-ol-Ac	21,56	215,85
Ara-ol-Ac	21,62	215,75
Gli-ol-Ac	25,10	215,75

usando-se como eluente acetato de etila:piridina:água (40:11:5) e revelador oxalato de anilina confirmou também a presença dasoses citadas acima.

O CGL acoplado a EM da mistura dos acetatos de alditóis (Fig. 11) indicou a presença de arabinose, xilose, ramnose e glicose com a razão molar (1:3:5:8) de acordo com os cálculos da abundância total e ou relativa (Tab. 3) indicação confirmada também pela confrontação dos tempos de retenção e pico base com padrões (Tab. 4) preparados de modo idêntico. Além da hidrólise ácida, Ps-3 (2mg) foi também submetido a hidrólise alcalina e o material resultante desta hidrólise e Ps-3 (material original) foram comparadas em cromatografia em camada delgada e apresentaram o mesmo Rf, indicando que não houve hidrólise. Isto nos levou a indicar para Ps-3 a estrutura de uma saponina cuja genina é o ácido oleanólico e glicona fixada no C-3 e constituída de arabinose, xilose, ramnose e glicose com a razão molar 1:3:5:8.



R = arabinose+xilose+ramnose+glicose (1:3:5:8)

Ps-3

Do extrato cloroformio-metanol de *P. saman* foi também

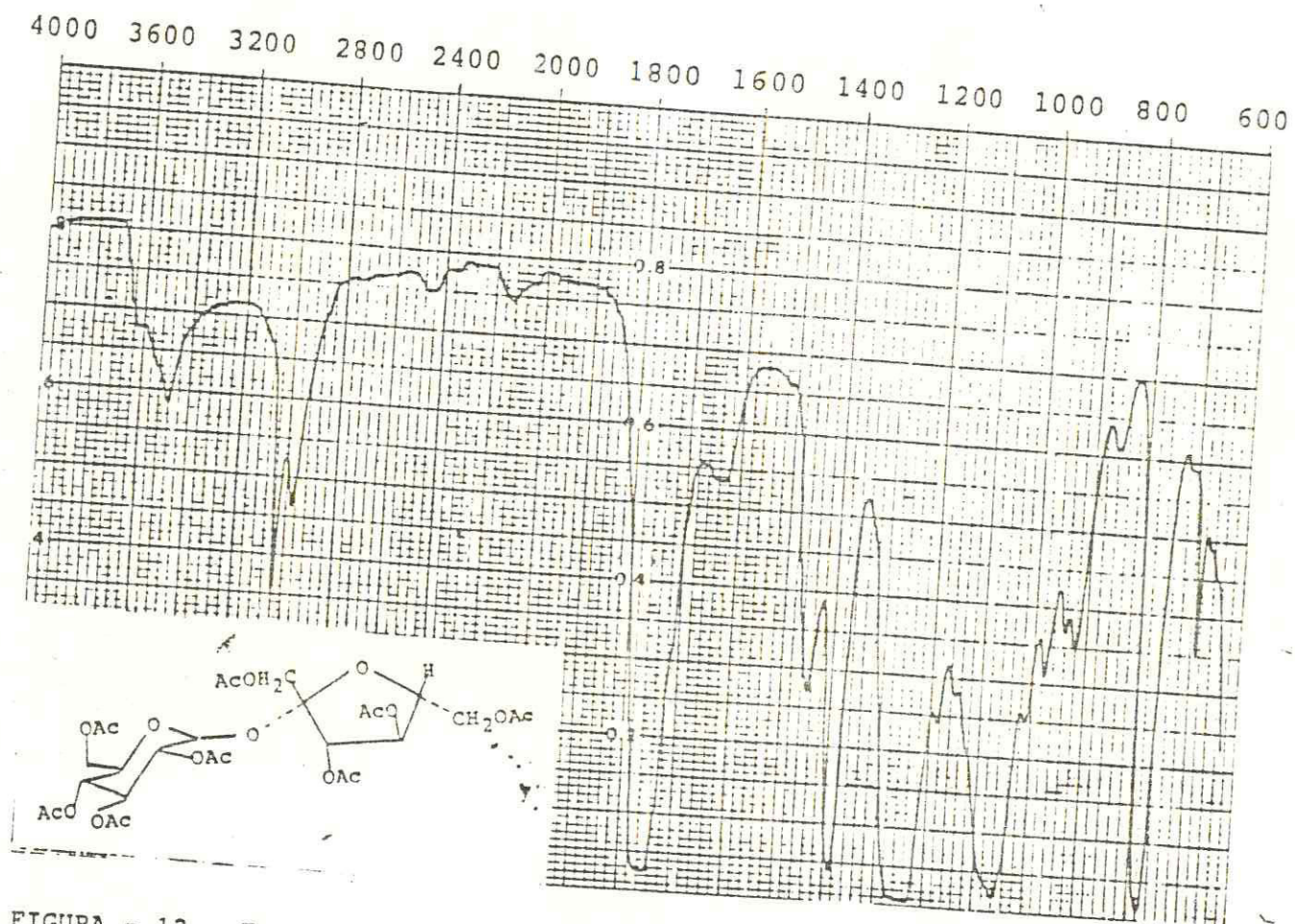


FIGURA - 12 - Espectro IV de Ps - 4Ac
Fase: KBr

isolado um composto que após acetilação foi purificado em coluna de sílica gel sendo denominado de Ps-4Ac (sacarose peracetilada).

O espectro no I.V. de Ps-4Ac (Fig. 12), apresentou absorções em: 1745cm^{-1} atribuída a carbonila de éster; 1225 e 1050cm^{-1} correlacionadas a estiramento C-O.

O espectro de RMN ^1H a 300MHz de Ps-4Ac (Fig. 13) apresentou uma absorção em 5.69δ (d, $J = 3.6\text{Hz}$, 1H) indicada para próton anomérico de uma α -glicose⁹⁴. A integração da região que vai de 4.10 - 5.47δ revelou a presença de 13 hidrogênios assim indicados: 5.45 (d, $J = 5.7\text{Hz}$, 1H); 5.44 (t, $J = 9.9\text{Hz}$, 1H); 5.37 (t, $J = 5.7\text{Hz}$, 1H); 5.08 (t, $J = 9.9\text{Hz}$, 1H); 4.87 (dd, $J = 10.3$ e 3.6Hz , 1H); 4.10 - 4.40δ (m, 8H). Além destas absorções foram observadas a presença de oito singletes em 2.18 , 2.12 , 2.12 , 2.11 , 2.10 , 2.10 , 2.04 e 2.02δ indicados para os grupos metila dos acetatos (CH_3CO).

O número de hidroxilas acetiláveis associado a outras absorções existentes nos levou a supor que Ps-4Ac tratava-se de um dissacarídeo.

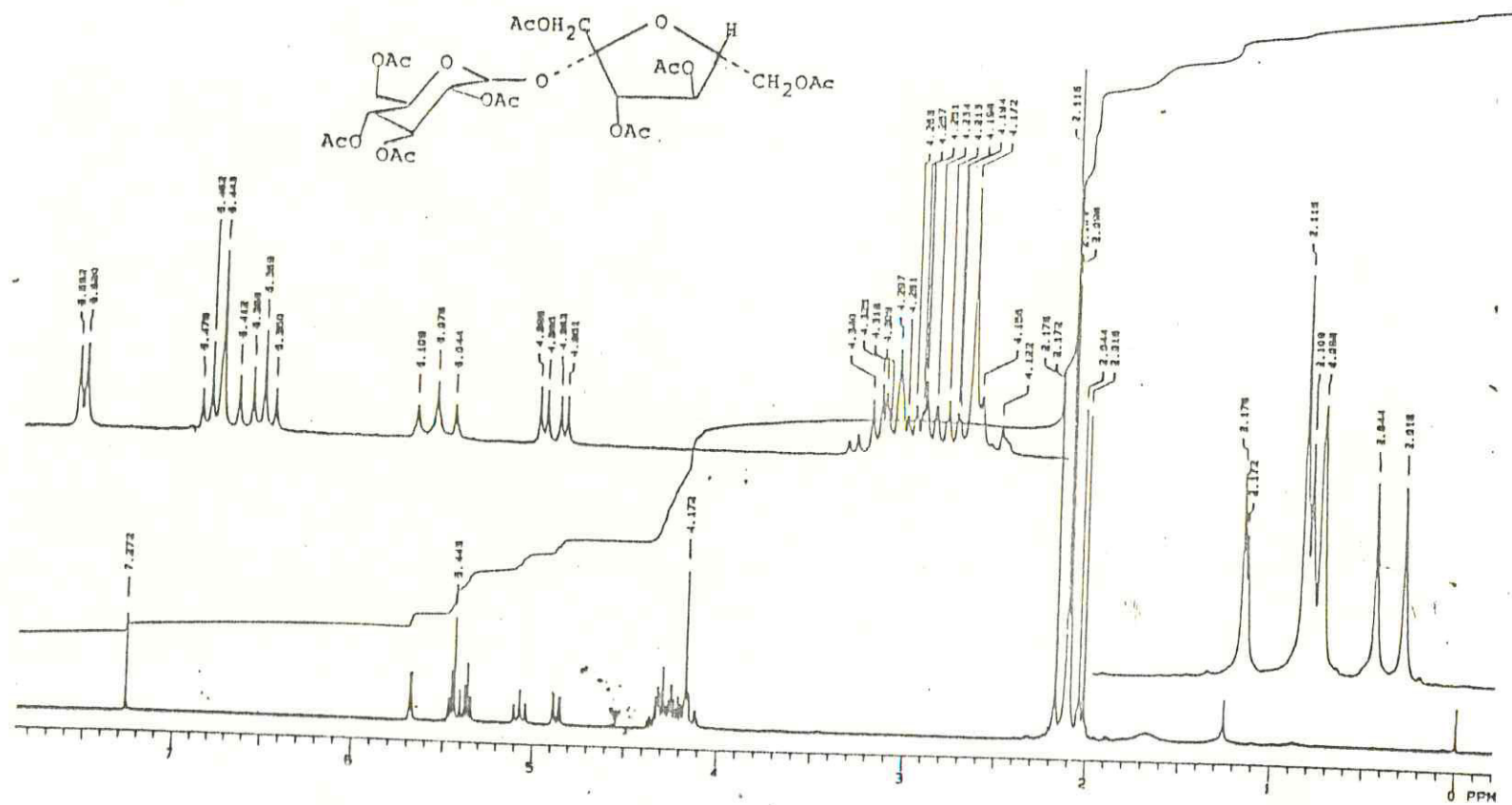
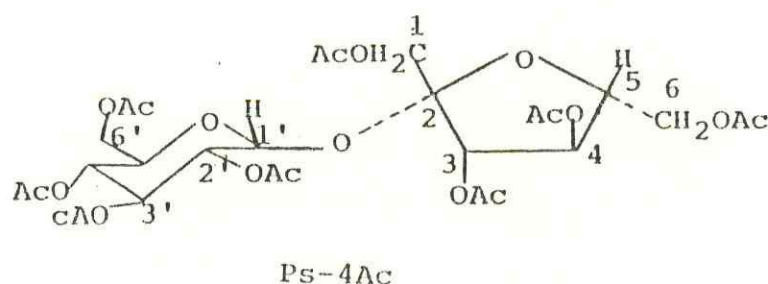
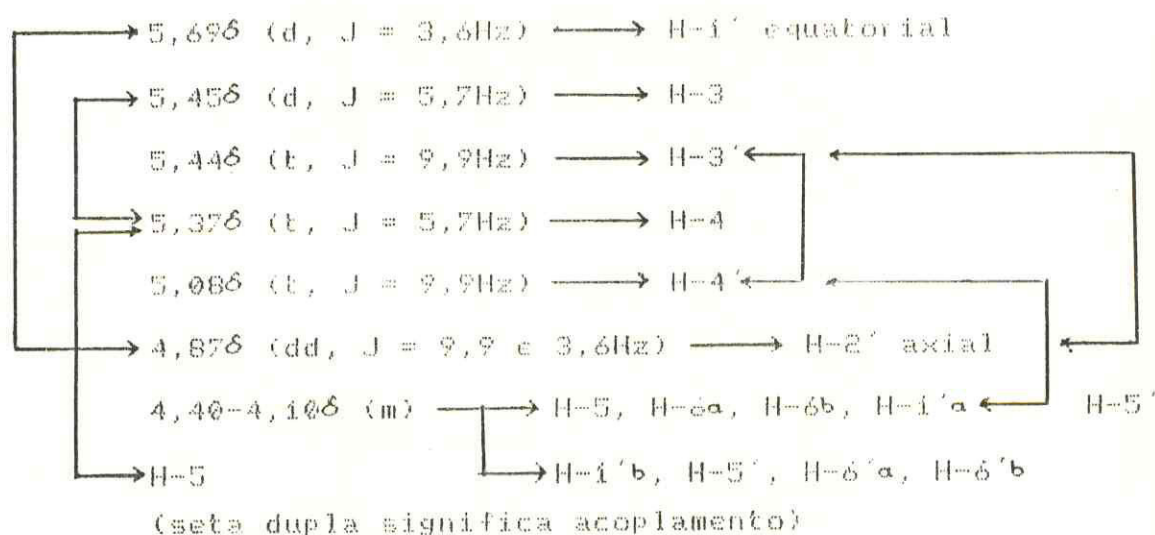


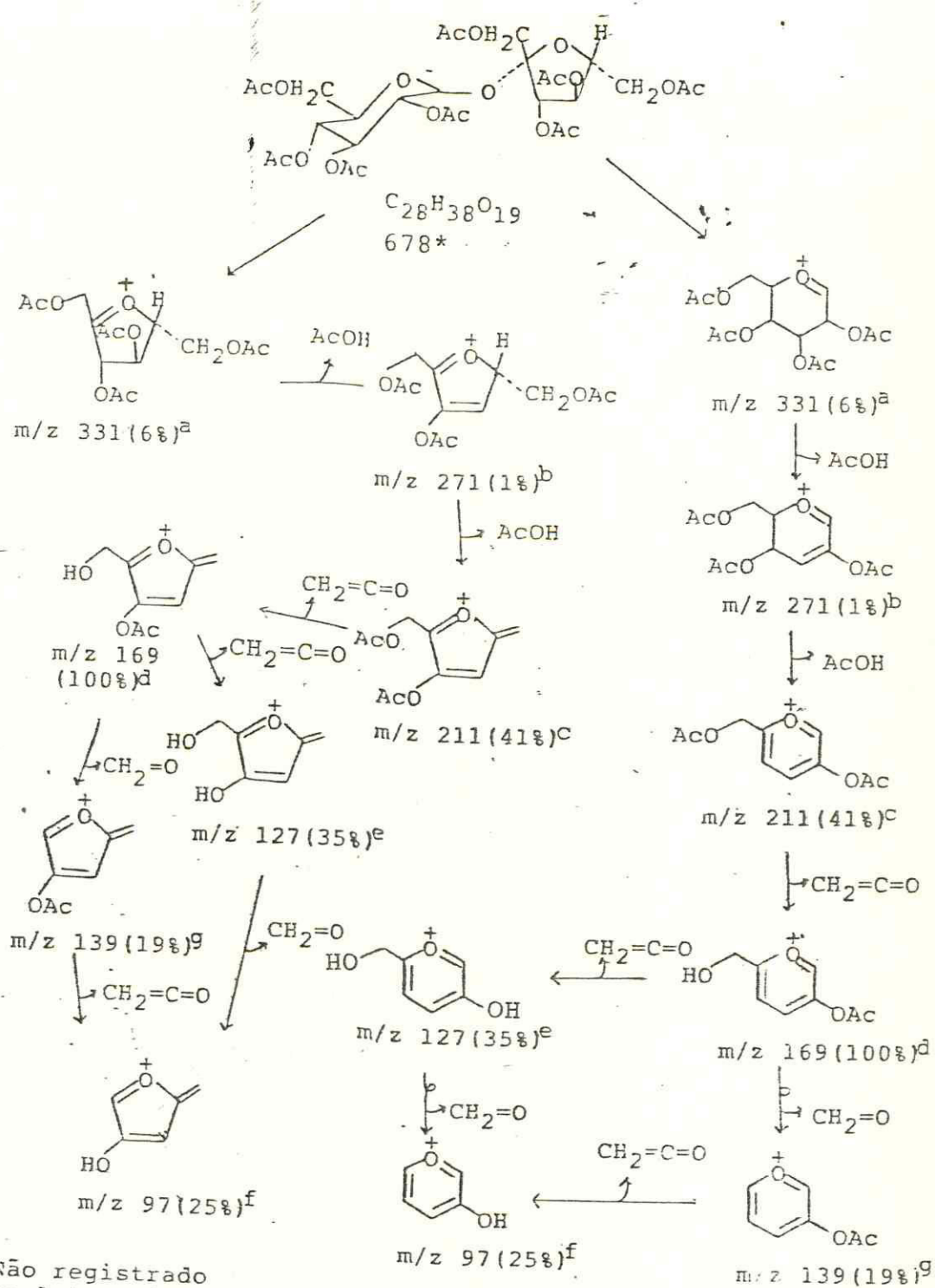
FIGURA - 13 - Espectro de RMN¹H de Ps-4Ac
(valor δ-CDCl₃, 300MHz)

O RMN ^1H juntamente com o espectro bidimensional ^1H - ^1H COSY (Fig. 14) permitiu a seguinte dedução.



A fragmentação apresentada por Ps-4Ac (Figura 3a) embora sem o aparecimento do íon molecular, sugere a presença de hexose pela observação do fragmento m/z 331 além de outros íons coincidentes com a fragmentação de unidade de hexose peracetilada (Quadro 3).

QUADRO 3 - Fragmentação proposta para Ps-4Ac



*Não registrado

As letras indicam fragmentos com a mesma m/z

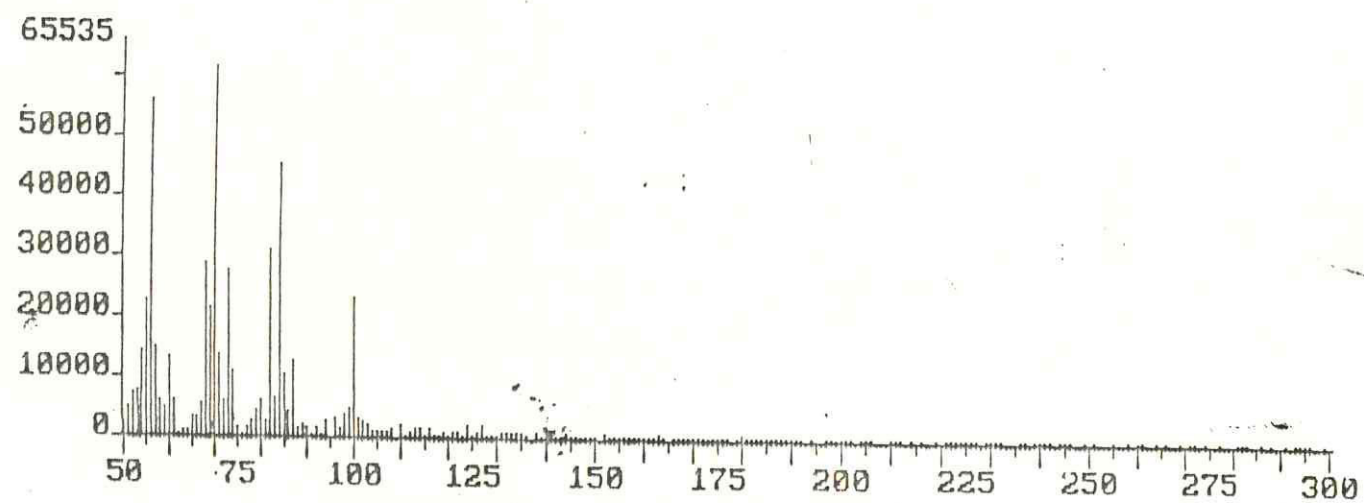


FIGURA - 3a - Espectro de massas de Ps-4Ac

A análise do RMN ^{13}C (Fig. 15) apresentou oito sinais em 170,70, 170,48, 170,10, 170,10, 170,03, 169,89, 169,66 e 169,51 δ confirmando a presença das carbonilas dos acetatos. A presença das absorções em 103,99 e 99,93 δ indicadas para carbonos anoméricos⁹⁸ e mais a observação de dez absorções na região que vai de 60-80 δ característica da absorção de carbonos não anoméricos de carboidratos⁹⁹ confirmam a estrutura de um dissacarídeo para Ps-4Ac. Vale salientar que a identificação dos carbonos anoméricos como quaternário e terciário foi feita com o auxílio da técnica DEPTOL (Fig. 16). As demais absorções correspondem a carbonos terciários com exceção dos sinais em 63,64, 62,88 e 61,75 δ que foram atribuídos aos carbonos metilênicos de glicose e frutose. As absorções de 20,69-20,56 δ são atribuídas aos grupos metilas dos acetatos (CH_3CO).

O fato da sacarose ser um dos dissacarídeos mais abundantes na natureza, embora não tendo sido citada como componente de *P. saman*, levou-nos a comparar o espectro de RMN ^{13}C de Ps-4Ac com o da sacarose⁹⁵ (Tab. 5) registrado na literatura.

As evidências descritas acima, somadas a outros fatores como a coincidência de Rf. 0,7 de Ps-4Ac com o do peracetato de sacarose em cromatografia em camada delgada, está condizente com a estrutura do peracetato α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranosídeo para Ps-4Ac.

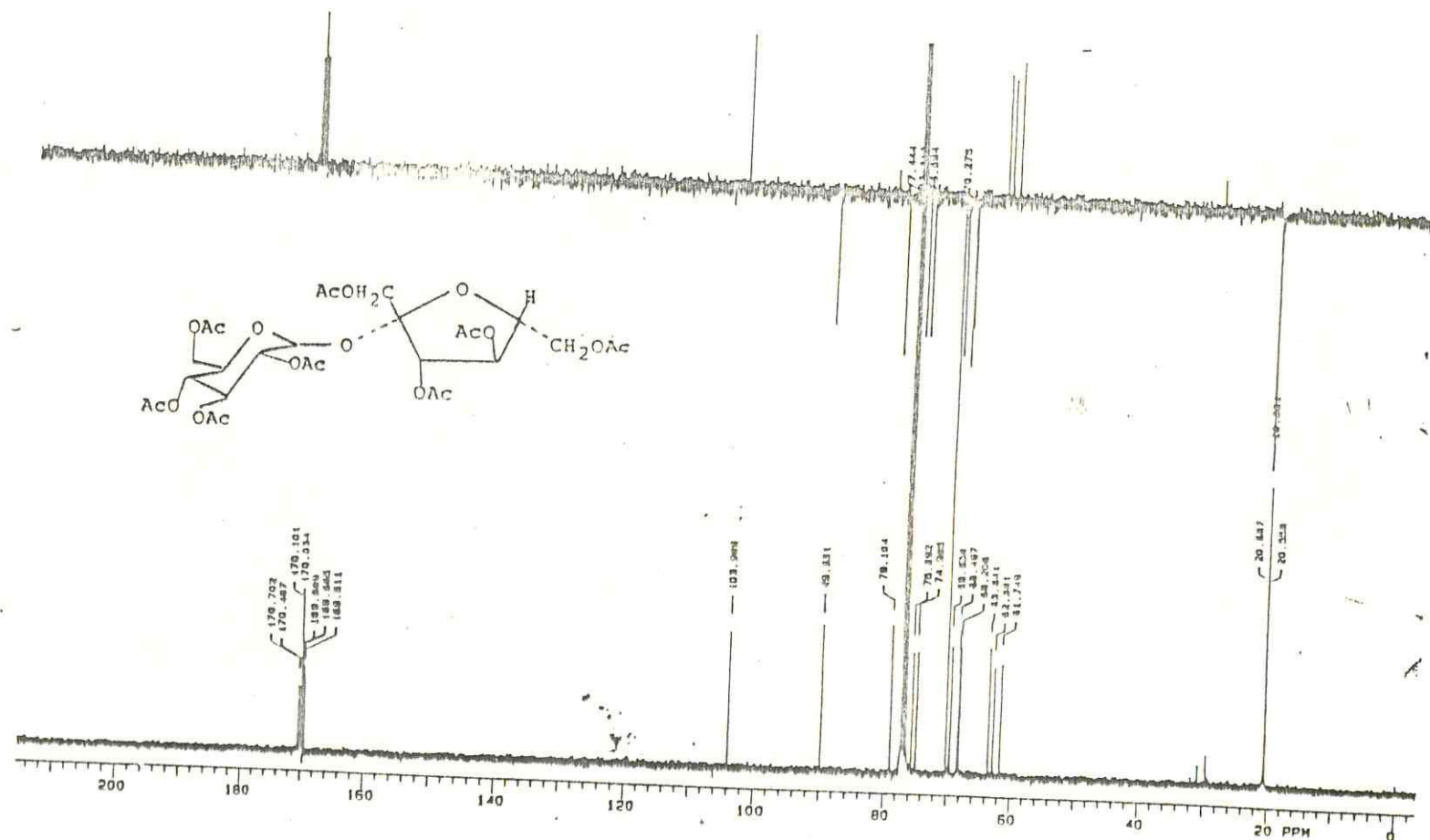


FIGURA - 15 - Espectro de RMN ^{13}C de Ps-4Ac
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

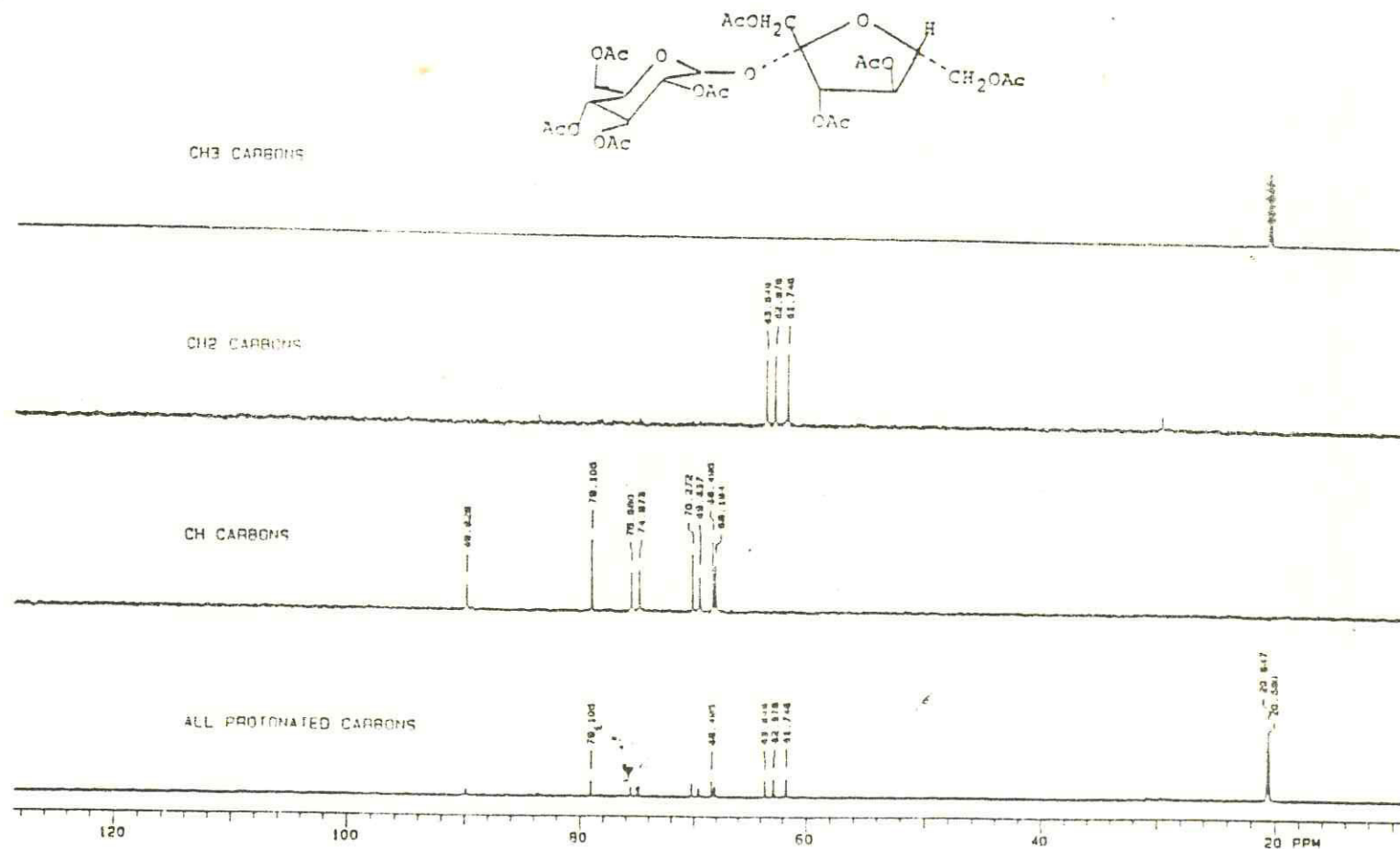
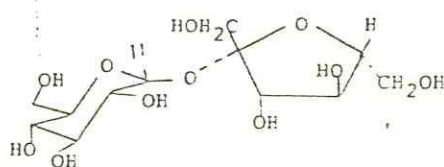
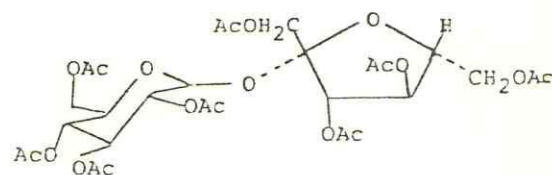


FIGURA - 16 - Espectro RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ps-4Ac
(valor 8- CDCl_3 , 75MHz)



Mod. 1



Ps-4Ac

TABELA 5 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranosídio)⁹⁵ e Ps-4Ac (α -D-glicopiranosil- β -D-frutofuranosídio peracetato)

C	Mod. 1	Ps-4Ac
1	63,3	62,88
2	104,4	103,99
3	77,4	75,69
4	75,0	74,98
5	82,2	79,10
6	63,4	63,64
1'	92,9	89,93
2'	72,0	68,21
3'	73,6	70,27
4'	70,2	68,49
5'	73,3	69,64
6'	61,1	61,75

9 - EXPERIMENTAL: PITHECOLOBIUM SAMAN BENTH

9.1 - Coleta de Material

O material botânico vegetal utilizado neste estudo foi coletado (em 1985) nos arredores de Fortaleza (Ceará) por Manoel Andrade Neto, constando de casca e entrecasca de *Pithecolobium saman* Benth. cuja exsicata n^o 12.223 se encontra arquivada no herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará.

9.2 - Obtenção dos extratos cloroformio e cloroformio-metanol

9.2.1 - A entrecasca foi separada da casca em seguida dessecada e submetida a moagem. O material pulverizado (3.000g), foi extraído com cloroformio. O extrato foi evaporado sob pressão reduzida obtendo-se um material pastoso escuro (2,7g). Este material foi submetido a cromatografia em camada delgada observando-se uma mistura complexa que não foi trabalhada em virtude de pouca quantidade de material.

9.2.2 - O material vegetal resultante da extração anterior foi então submetido a uma nova extração usando-se desta vez uma mistura cloroformio:metanol, 40% também a frio. O extrato foi evaporado obtendo-se um resíduo pastoso de cor escura o qual pesou 37,5g. Uma pequena porção deste resíduo agitada com água formou espuma persistente e característica, o que nos levou a supor da presença de saponinas.

9.3 - Elaboração do extrato cloroformio:metanol

O extrato cloroformio:metanol foi cuidadosamente cromatografado em sílica sob pressão usando-se como fase móvel, cloroformio:metanol, 35%. Foram colhidas 35 frações de 200ml cada. Após cromatografia em camada delgada usando como eluente etanol:piridina:n-butanol:ácido acético:água (100:20:20:3:30) e revelador orcinol sulfúrico, foram reunidas as frações de 4 a 8, 9 a 24 e 25 a 33. As frações de 4 a 8 apresentaram-se em camada fina como uma única substância com R_f 0,86, tendo sido reunidas e designadas pelo código Ps-3. As frações de 9 a 24 além de Ps-3 continham uma outra substância com R_f 0,78 sendo designada pelo código Ps-4. As frações de 25 a 33 apresentaram somente uma mancha correspondente a Ps-4.

9.4 - Purificação da mistura Ps-3/Ps-4

As frações de 9 a 24 foram reunidas e cromatografadas em coluna de sílica gel da maneira usual, usando como fase móvel a porção sobrenadante da seguinte mistura n-butanol:metanol:água (10:4:14). Foram coletadas 20 frações de 7ml cada que após análise em camada delgada usando como eluente e revelador os mesmos relatados em 11.3, permitiram isolar maiores quantidades de Ps-3 e Ps-4.

9.5 - Hidrólise alcalina de Ps-3

Ao composto puro Ps-3 (2mg) foi adicionado MeOH (2ml) e NaOH, 5% (2ml) e a mistura refluxada durante 4 horas. Após

refluxo, o produto obtido foi extraído com n-butanol (3x2ml) e comparado com Ps-3 em camada delgada. O material submetido a hidrólise e Ps-3 apresentaram o mesmo Rf indicando que não houve hidrólise.

9.6 - Hidrólise ácida de Ps-3

A 250mg de Ps-3 foram adicionados 30ml de H_2SO_4 10% e a mistura submetida a refluxo por 2 horas. Após resfriamento o precipitado foi separado por filtração a vácuo, e extraído com clorofórmio. O extrato clorofórmico foi secado com Na_2SO_4 anidro, filtrado e evaporado a pressão reduzida. O material resultante foi cromatografado em sílica gel sob pressão (coluna de 17 x 2cm) usando-se como fase móvel uma mistura de n-hexano:acetato de etila, 20%. Foram coletadas 28 frações de aproximadamente 25ml cada. Após cromatografia em camada delgada usando-se como eluente n-hexano:acetato de etila 20% e revelador solução ácida de sulfato cérico, verificou-se que as frações que apresentaram maior quantidade de material foram reunidas e receberam a sigla Ps-2.

9.6.1 - Purificação de Ps-2

A mistura contendo as frações Ps-2 foi dissolvida em clorofórmio e após dissolução foi adicionado igual quantidade de metanol e deixado em repouso. Após vários dias observou-se a formação de um material sólido que foi filtrado e recristalizado no mesmo sistema de solvente formando um

material cristalino o qual deu teste positivo de Lieberman Burchard característico de sapogeninas triterpenoidais. Apresentou R_f 0,50 usando-se como eluente hexano:acetona 35% e revelador orcinol sulfúrico.

9.7 - Hidrólise ácida de Ps-3

O composto Ps-3 (5mg) foi hidrolisado com ácido trifluoroacético 4N em ampola selada durante 3 horas a 100° C. O resíduo foi levado a secura sob pressão reduzida por coevaporação do ácido trifluoroacético com metanol ($5 \times 3\text{ml}$). Por fim o resíduo foi diluído em 1ml de metanol e submetido a cromatografia em camada delgada usando como eluente o "sistema A" [isopropanol:acetato de etila:água (7:2:1)] e acetato de etila (1,25:1,75) e como revelador orcinol sulfúrico. Ficou evidenciado a presença de quatro diferentes oses as quais foram identificadas por comparação usando-se as seguintes técnicas: cromatografia em camada delgada, cromatografia em papel e CGL acoplado a EM descritos a seguir.

9.7.1 - Cromatografia em camada delgada das oses obtidas por hidrólise de Ps-3

A cromatografia em camada delgada foi realizada com o auxílio de padrões usando-se como eluente o "sistema A" e acetato de etila (1,25:1,75) e como revelador orcinol sulfúrico indicando a presença de arabinose, xilose, ramnose e glicose, cujos R_f foram respectivamente 0,23, 0,39, 0,64 e 0,11.

9.7.2 - Cromatografia em papel das oses obtidas da hidrólise de Ps-3

A cromatografia em papel foi também realizada com o auxílio de padrões, usando-se como eluente acetato de etila:piridina:água (40:11:6) e como revelador oxalato de anilina tendo-se confirmado a presença de arabinose, xilose, ramnose e glicose.

9.7.3 - Redução e acetilação das oses de Ps-3

O material resultante da hidrólise de Ps-3 com ácido trifluoroacético foi levado a secar e as oses reduzidas com boroidreto de sódio (15mg) em 1ml de hidróxido de amônio 0,1N durante uma hora à temperatura ambiente. O excesso de boroidreto de sódio foi destruído pela adição gota a gota de ácido acético. O material foi destilado a vácuo e o ácido bórico formado foi eliminado por coevaporação com metanol (3 x 5ml). O material foi acetilado com 3ml da mistura piridina: anidrido acético (10:1) deixado em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. Ao produto acetilado foram adicionados 5ml de água e os alditóis acetilados extraídos com clorofórmio (3 x 5ml). Ao extrato clorofórmico foi adicionado sulfato de sódio anidro, filtrado em lã de vidro, evaporado o solvente e então submetido a CGL acoplado a EM o qual em comparação com cromatograma de padrões, indicou a presença de arabinose, xilose, ramnose e glicose na razão molar (1:3:5:8).

9.8 - Acetilação de Ps-4

Ao composto identificado como Ps-4 (161mg) foram adicionados 50ml de anidrido acético, 5ml de piridina e a mistura resultante foi processada da maneira usual. O produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, usando como fase móvel clorofórmio:acetona em proporções variáveis de 5, 10, 20 e 30%. A pureza de Ps-4Ac (71mg) foi verificada em camada delgada usando como eluente clorofórmio:acetona 10% e como revelador orcinol sulfúrico, apresentando um Rf de 0,7.

10 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE PITHECOLOBIUM SAMAN BENTH E SEUS DERIVADOS

10.1 - Ps-2

Sólido branco, Rf 0,50 usando-se como eluente hexano:acetona 35% e revelador sulfato cérico.
 Teste de Lieberman Burchard: vermelho a violeta.

Espectro de massas, m/z (%)

248(55), 208(4), 207(15), 203(100), 202(19), 201(11),
 191(9), 190(19), 189(30), 187(14), 175(25).

Quadro 1, pag 34; fig. 1a, pag. 35

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,28(t, J=3,3Hz, H-12), 3,22(dd, J=10,4 e 5,1Hz, H-3 axial), 2,82(dd, J=13,9 e 3,6Hz, H-18 axial), 1,13(s, CH_3), 0,99(s, CH_3), 0,93(s, CH_3), 0,92(s, CH_3), 0,90(s, CH_3), 0,77(s, CH_3), 0,75(s, CH_3).

Fig. 1, pag. 32

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

183,2(C-28), 143,59((C-13), 122,64(C-12), 70,04(C-3),
 55,23(C-5), 47,64(C-9), 46,53(C-17), 45,88(C-19),
 41,59(C14), 40,98(C-18), 39,28(C-8), 38,76(C-4),
 38,41(C-1), 37,09(C-10), 33,80(C-21), 33,06(C-29),
 32,62(C-7), 32,44(C-22), 30,67(C-20), 28,10(C-23),

27,69(C-15), 27,18(C-2), 25,94(C-27), 23,57(C-30),
23,40(C-16), 22,92(C-11), 18,30(C-6), 17,14(C-26),
15,54(C-24), 15,32(C-25).

Fig. 2, pag. 36

10 2 - Ps-2MeAc

Sólido branco, pf. 208-210°C e Rf 0,70 usando-se como
eluente hexano:acetato de etila 10% e revelador
sulfato cérico.

Espectro IV. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

2980(F), 1738(F), 1480(m), 1370(m), 1225(F).

Fig. 4, pag. 41

Espectro de massas, m/z (%)

262(100), 250(13), 249(100), 203(100), 202(100),
201(100), 191(73), 190(100), 189(100), 187(100),
176(46), 175(100).

Quadro 2, pag. 44; fig. 2a, pag. 42

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,27(t, J=3,6Hz, H-12), 4,44(dd, J=9,0 e 6,3Hz, H-3
axial), 3,61(s, OCH_3), 2,85(dd, J=14,1 e 4,2Hz, H-18
axial), 2,04(s, OCOCH_3), 1,12(s, CH_3 -27), 0,92(s,
 CH_3 -25), 0,91(s, CH_3 -30), 0,89(s, CH_3 -29), 0,86(s,
 CH_3 -24), 0,85(s, CH_3 -23), 0,72(s, CH_3 -26)

Fig. 5, pag. 42

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

178,26(C28), 176,96(OCOMe), 143,80(C-13),
 122,28(C-12), 80,93(C-3), 55,32(C-5), 51,49(CO2Me),
 47,57(C-9), 46,73(C-17), 45,86(C-19), 41,65(C-14),
 41,32(C-18), 39,31(C-8), 38,13(C-1), 37,69(C-4),
 36,94(C-10), 33,87(C-21), 33,09(C-29), 32,62(C-7),
 32,39(C-22), 30,68(C-20), 28,04(C-23), 27,69(C-15),
 25,89(C-27), 23,63(C-30), 23,53(C-2), 23,41(C-16),
 23,08(C-11), 21,28(OMe), 18,22(C-6), 16,83(C-24),
 16,67(C-26), 15,35(C-25),
 29,68 (~ não identificado)

Fig. 6, pag. 45

10.3 - Ps-4Ac

Sólido branco, pf $85-87^\circ\text{C}$, Rf 0,70 usando-se como eluente cloroformio:acetona 10% e revelador orcinol sulfúrico.

Espectro IV. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

2985(F), 2975(m), 1745(F), 1385(F), 1225(F), 1050(F),
 745(F).

Fig. 12, pag. 55

Espectro de massas, m/z (%)

331(6), 271(1), 269(100), 211(41), 139(19), 127(35),
 97(25)

Quadro 3, pag. 60; fig. 3a, pag. 61

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,69(d, $J=6\text{Hz}$, H-1'equatorial), 5,45(d, $J=5,7\text{Hz}$, H-3),
 5,44(t, $J=9,9\text{Hz}$, H-3'), 5,37(t, $J=5,7\text{Hz}$, H-4),
 5,08(t, $J=9,9\text{Hz}$, H-4'), 4,87(dd, $J=9,9$ e $3,6\text{Hz}$, H-2'
 axial), 4,40-4,10(m, H-5, H-6a, H-6b, H-1'a, H-1'b,
 H-5', H-6'b), 2,18(s, OAc), 2,12(s, OAc), 2,12(s,
 OAc), 2,11(s, 2OAc), 2,10(s, OAc), 2,10(s, OAc),
 2,04(s, OAc), 2,02(s, OAc).

Fig. 13, pag. 57

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

170,70(OCOMe), 170,49(OCOMe), 170,10(OCOMe),
 170,03(OCOMe), 169,89(OCOMe), 169,66(OCOMe),
 169,51(OCOMe), 103,99(C-2), 89,93(C-1'), 79,10(C-5),
 75,69(C-3), 74,98(C-4), 70,27(C-3'), 69,64(C-5'),
 68,49(C-4'), 68,21(C-2'), 63,64(C-6), 62,88(C-1),
 61,75(C-6').

Fig. 15, pag. 63

11 - CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS SOBRE SAPINDUS SAPONARIA LINN

Árvore de 4 a 10m de altura copa densa e larga; folhas com 6 a 12 folíolos, lanceolados oblongos pubescentes ou glabros, raquis frequentemente alado. Flores em grandes panículas terminais, brancacentas unissexuadas ou polígamas; sépalas rotundadas, podendo as interiores serem elípticas; pétalas ovais brancas, cerca de 3mm de comprimento e 1,5mm de largura; estames em número de 8, exsertos filetes pilosos e anteras ovais e glabras. Baga globosa de 1,5cm de diâmetro, com polpa amarela translúcida contendo sementes pretas e duras.

Obs: Descrição fornecida pelo setor de botânica do Departamento de Biologia da UFC.

12 - CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE SAPINDUS SAPONARIA LINN

Sapindus saponaria é uma planta da família *Sapindaceae*, nativa na região tropical isto é, América e Índia onde os frutos são usados como sabão. No Egito ela é usada como planta ornamental e também utilizada no tratamento de úlcera, escabiose e doenças das articulações. A infusão do fruto é usada no tratamento de epilepsia, catarata, asma brônquica, doenças do útero atribuindo-se bons resultados no tratamento de psoríase, icterícia e pelagra⁸⁶.

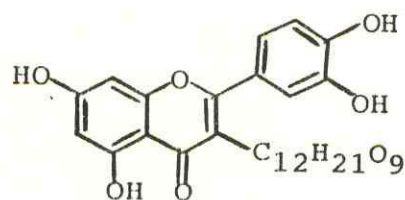
Na literatura é citada a presença de carboidratos, saponinas, esteróis insaturados e triterpenos nas folhas, madeira, sementes e frutos⁸⁶. Uma das saponinas extraída da casca do fruto produz como aglicona uma substância que foi proposta como sendo hederagenina⁸⁷. A presença de flavonóides foi verificada nas folhas e madeira, taninos, óleos voláteis e compostos antraquinônicos somente na madeira⁸⁶.

A extração das sementes com éter de petróleo rendeu além de óleo fixo, β -sitosterol [XII], α -amirina [X], β -amirina [XIII] e vários ácidos como palmítico [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$], esteárico [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$], oléico (cis-octadeceno-9-óico), linoléico (cis, cis-octadecadieno-9,12-óico) e araquidônico [LVII]. No extrato

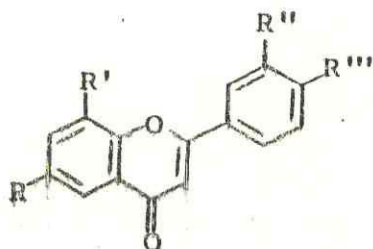
etanólico das folhas e madeira foram encontradas rutina [LVIII], luteolin [LIX] e 4'-metoxi-flavona [LX]⁸⁶.



(LVII)



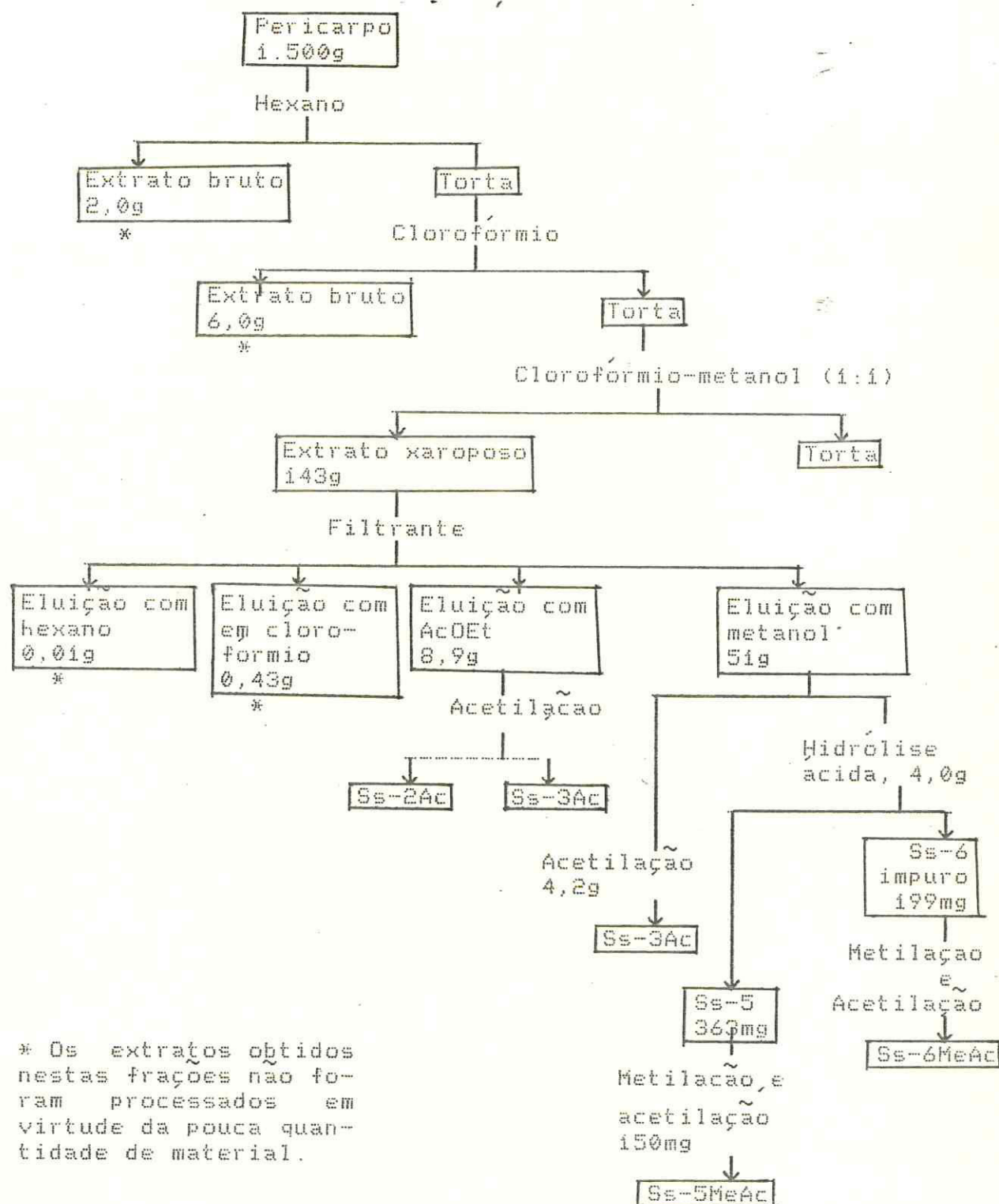
(LVIII)



(LIX) $R=R'=R''=R'''=OH$

(LX) $R=R'=R''=H$; $R'''=OMe$

13 - ESQUEMA 2 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *SAPINDUS SAPONARIA* LINN



14 - DISCUSSÃO SOBRE A DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE SAPINDUS SAPONARIA LINN

O pericarpo do fruto (1.500g) de *Sapindus saponaria* foi trabalhado de acordo com o ESQUEMA 2 levando ao isolamento de várias substâncias que tiveram sua determinação estrutural como segue.

14.1 - Ss-6MeAc

O extrato bruto cloroformio-metanol foi hidrolisado com solução aquosa de ácido sulfúrico a 10% obtendo-se um material xaroposo que foi cromatografado em coluna de sílica obtendo-se Ss-6 impuro de acordo com o Esquema 2. A fração identificada como Ss-6 foi metilada e acetilada e recebeu a denominação de Ss-6MeAc. Este composto apresentou-se como sólido de cor branca, R_f 0,74 e pf. 173,5-175,8° e revelou coloração vermelha frente ao reativo de Lieberman Burchard o que permitiu sugerir para Ss-6MeAc um esqueleto triterpenoidal.

O espectro do I.V. (Fig. 17) apresentou forte absorção a 1725cm^{-1} que sugere a presença de carbonila e bandas a 1225 e 1040cm^{-1} atribuídas a estiramento C-O de éster.

O espectro de RMN ^1H de Ss-6MeAc (Fig. 18) apresentou absorções tais como: a 5,256 (t, $J = 3,6\text{Hz}$) indicada para próton olefínico; um sinal centrado em 4,756 (dd, $J = 11,1$

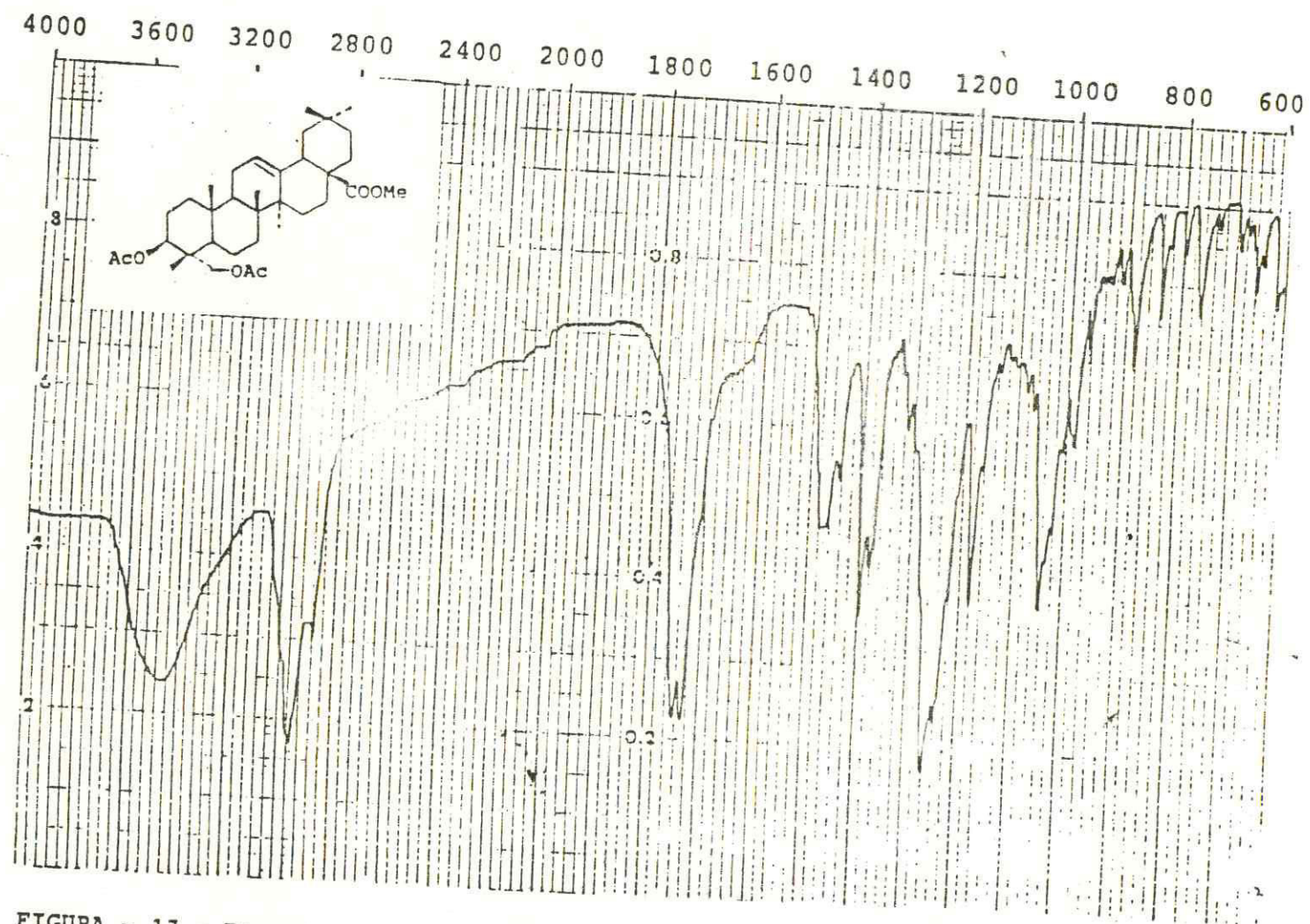


FIGURA - 17 - Espectro IV de Ss6MeAc
Fase: KBr

e 5,1Hz) associado ao hidrogênio H-3 em posição alfa comumente encontrado em esqueletos triterpenóides Δ^{12} -insaturados e absorções a 3,83 δ (d, J = 11,4Hz) e 3,65 δ (d, J = 11,4Hz) indicadas como parte integrante de um sistema AB representado pelo grupo CH₂OAc^{88, 89}. As absorções indicadas para o grupo CH₂OAc estão condizentes com exemplos citados na literatura, que podem ser vistos na Tabela 6. Comparação com os dados da Tabela 6 nos levou a propor a posição equatorial para o grupo CH₂OAc. O aparecimento do sinal em 3,58 δ correspondendo a uma metoxila indicou a presença de carboxila no composto originário; absorção em 2,83 δ (dd, J = 13,6 e 4,5Hz) indicada para o hidrogênio axial em relação ao anel E em C-18; a presença de dois grupos CH₃CO foi confirmada pelo aparecimento dos sinais em 1,98 δ (s) e 2,03 δ (s) comprovando a existência de duas hidroxilas acetiláveis no material de partida; e mais a 1,08 (s, CH₃-27), 0,93 (s, CH₃-25), 0,89 (s, CH₃-30), 0,86 (s, CH₃-29), 0,80 (s, CH₃-24), e 0,69 δ (s, CH₃-26) atribuídas a presença de seis grupos metila terciárias, devendo tratar-se portanto de um triterpenóide pentacíclico da série oleano Δ^{12} -insaturado em que duas metilas foram convertidas biogeneticamente a ácido carboxílico e a outra a álcool.

A análise do espectro de massas de Ss-OMeAc (Figura 4a) apresentou fragmentação retro-Diels-Alder própria do anel C dos triterpenóides da série oleano Δ^{12} -insaturados confirmando a presença de dois grupos hidroxila nos anéis A/B através dos

TABELA 6 Deslocamento químico de hidrogênios acetoximetilênicos e hidroximetilênicos no espectro de RMN ^1H de triterpenóides (Valor δ , CDCl_3 , 60MHz)

1. HIDROGÊNIOS AXIAIS (C-24)	CH_2OAc	CH_2OH	REF
Barbinervato de metila		3,52a	90
Barbinervato de metila diacetilado	4,80a		90
β -Bosvelinol		3,63a	91
β -Bosvelinol diacetilado	4,07a		91
19-Ceto-sericato de metila acetilado	4,18a		92
21-Epi-liclocavanol triacetilado	4,10a		93
21-Epi-serratriol triacetilado	4,22a		93
Icterogenina		3,73	91
Icterogenina monoacetilada	4,31a		91
Licoclavanin tetracetilado	4,07a		94
Licoclavanol triacetilado	4,07a		93
Sericato de metila triacetilado	4,22a		92
Sericato de metila tetracetilado	4,38a		92
Serratriol triacetilado	4,24a		93
Sojasapogenol B triacetilado	4,22a		95
2. HIDROGÊNIOS EQUATORIAIS (C-23)			
Arjunolato de metila triacetilado	3,65		95
Asiatato de metila triacetilado	3,73		96
Bassato de metila		3,66a	91
Bassato de metila triacetilado	4,00a		91
3 α ,23-Dihidroxi-lup-20(27)-eno		3,45a	97
3 α ,23-diacetil-lup-20(27)-eno	3,90a		97
3-Epi-hederagenato de metila		3,47al	98
Hederagenina		3,55a	91
Hederagenina diacetilada	3,78a		91
Lactona do ácido acácico		3,56a	99
Rotundato de metila		3,56a	90
Rotundato de metila diacetilado	3,77al		100
3 β ,23,28-trihidroxi-olean-11,13(18)-dieno		3,68a	101
3 β ,23,28-triacetil-olean-11,13(18)-dieno	3,80al		101

(*) Informações incompletas na literatura citada.

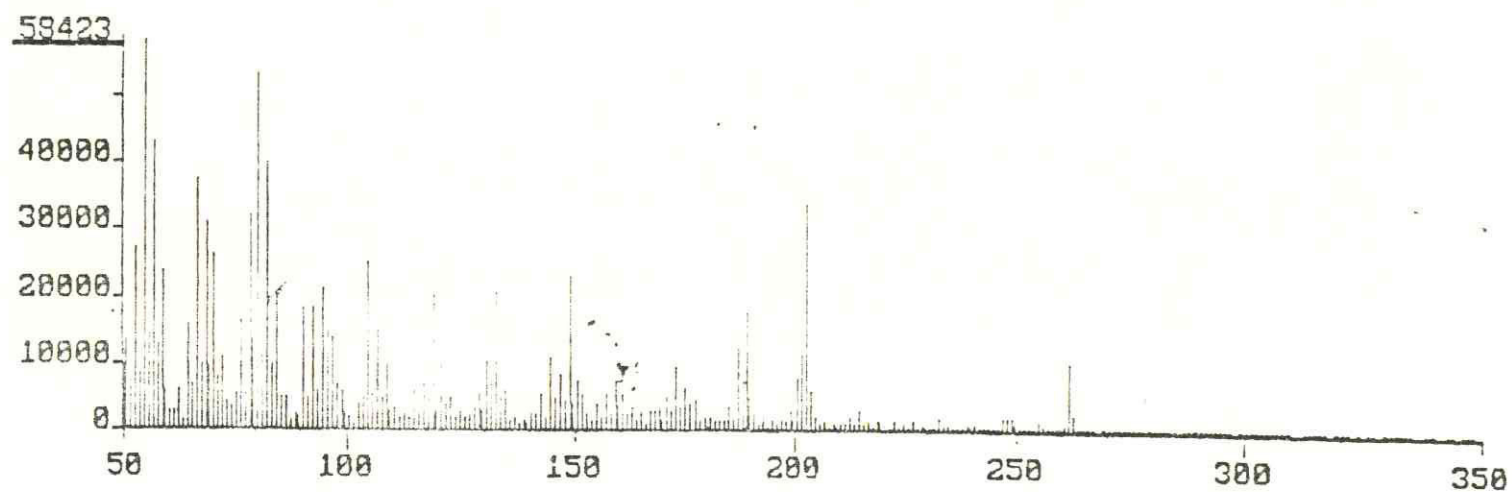
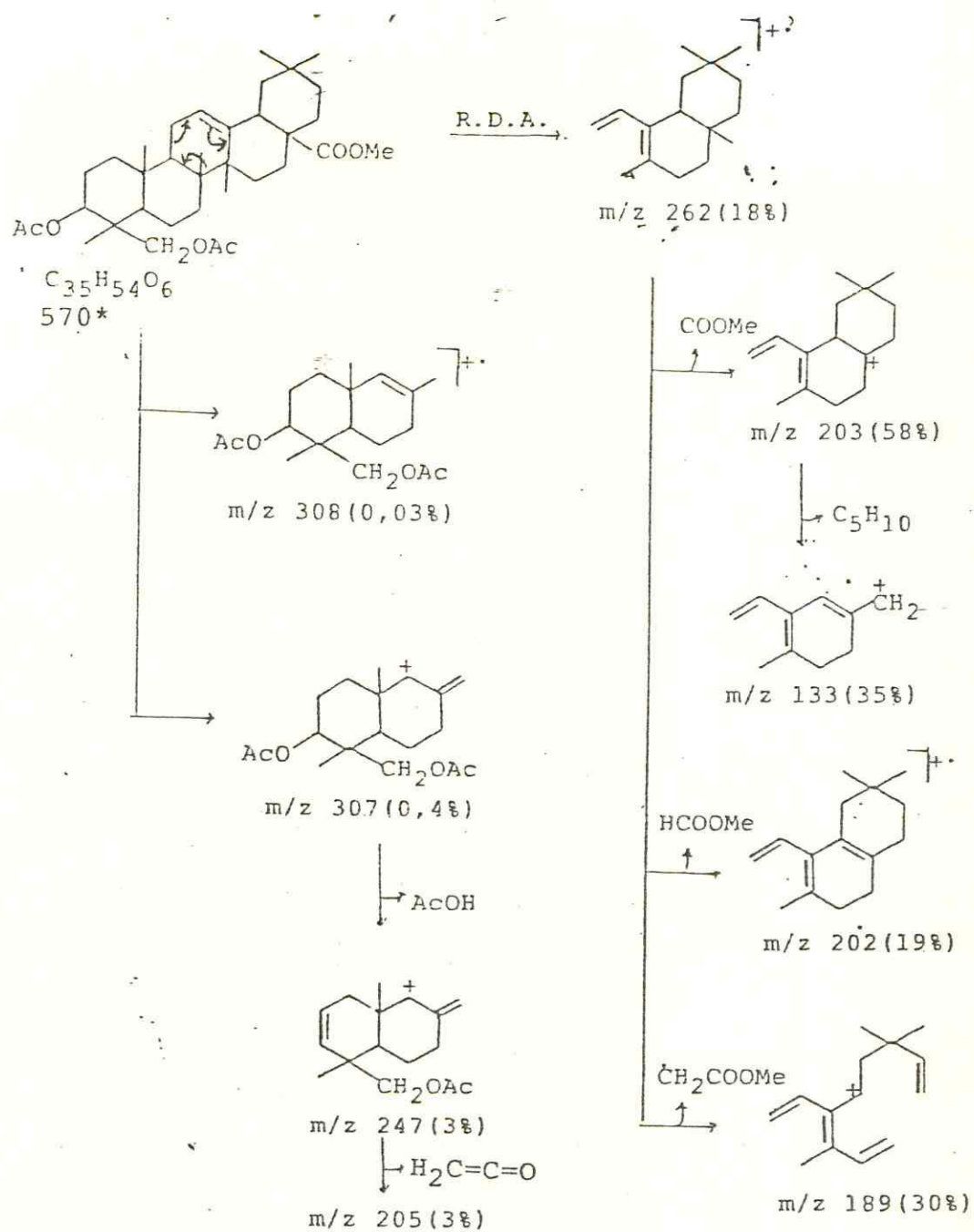


FIGURA - 4a - Espectro de massas de Ss-6MeAc

QUADRO 4 - Fragmentação proposta para Ss-6MeAc



*Não registrado'

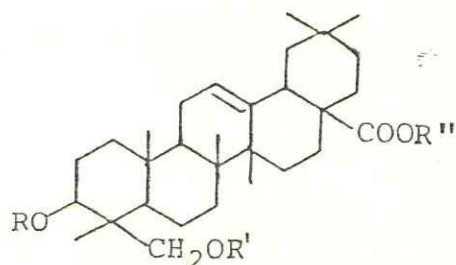
fragmentos m/z 307 e m/z 247 e carboxila nos anéis D/E pelas espécies m/z 262 e m/z 203 (Quadro 4).

O registro da presença de hederagenina em *Sapindus saponaria*, levou-nos a análise comparativa do RMN ^{13}C de Ss-6MeAc (Fig. 19) com aqueles já bem definidos do peracetato de hederagenina (Tab. 7). A identidade de ambos os espectros, somados as outras informações obtidas do APT (Fig. 20), DEPTGL (Fig. 21), e ^1H - ^1H COSY (Fig. 22), e ^{13}C - ^1H HETCOR (Fig. 23 e 23a) de Ss-6MeAc onde estão mostradas as principais correlações homonuclear e heteronuclear para a citada substância, acrescidas das informações descritas anteriormente, levou-nos a concluir que a referida genina trata-se de hederagenina (ácido 3β -diidroxiolean-12(13)-en-28-óico).

14.2 - Ss-5 e Ss-5Me

Também do extrato cloroformio-metanol após hidrólise com solução de ácido sulfúrico a 10% foi isolado um composto denominado Ss-5 obtido por cromatografia em coluna usando como eluente hexano-acetona, 20% apresentando-se como sólido branco com R_f 0,50 e $pf.$ 270,7-273,1 $^{\circ}\text{C}$.

A partir de Ss-5 foi preparado seu derivado metilado que foi denominado de Ss-5Me. Ambos apresentaram teste positivo para triterpenóides pentacíclicos Δ^{12} -insaturados frente ao reativo de Lieberman Burchard.



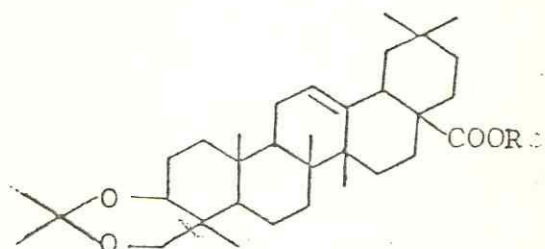
Mod 1 - R=R'=H; R''=Me

Mod 2 - R=R'=Ac; R''=Me

Ss- δ MeAc - R=R'=Ac; R''=Me

Ss-2Ac - R'=Ac; R''=H; R= gli-ram

Ss-3Ac - R'=Ac; R''=H; R = gli-ram-ara



Ss-5 - R=H

Ss-5Me - R=Me

TABELA 7 - Comparação dos dados de RMN ^{13}C do Mod. 1 (hederagenina éster metílico)^{8a}, Mod. 2 (peracetato de hederagenina)^{8a}, Ss-5, Ss-5Me, Ss-6MeAc, Ss-2Ac e Ss-3Ac

C'	Mod. 1	Mod. 2	Ss-5	Ss-5Me	Ss-6MeAc	Ss-2Ac	Ss-3Ac
1	38,1	37,7	38,76	38,85	37,73	38,34	38,43
2	26,4	23,0	23,43 ^a	23,50	23,00	25,51	25,54
3	76,4	74,3	77,59	77,59	74,49	81,96	82,77
4	41,7	40,6	37,25	37,23	40,50 ^a	41,92	41,73
5	49,7	47,7	51,51	51,57	47,85 ^a	47,84	47,86
6	18,5	18,1	17,62	17,68	17,94	17,98	17,96
7	32,4	32,3	32,41	32,36	32,33	32,42	32,45
8	39,3	39,3	39,43	39,47	39,25 ^a	39,28	39,29
9	47,5	47,7	47,65	47,70	47,68 ^a	47,84	47,86
10	36,9	36,8	36,76	36,78	36,74	36,56	36,58
11	23,1	23,0	22,80	23,05	22,94	22,86	22,79
12	122,2	122,0	122,42	122,20	122,16	122,49	122,46
13	143,6	143,6	143,54	143,75	143,80	143,60	143,58
14	41,7	41,6	41,53	41,65	41,55	41,92	41,56
15	27,7	27,7	27,65 ^a	27,70	27,62	27,54	27,54
16	23,4	23,4	23,22 ^a	23,24	23,37	23,40	23,36
17	46,7	46,6	46,46	46,68	46,68	46,52	46,52
→ 18	41,3	41,3	40,89	41,30	41,28	41,07	41,07
19	45,9	45,8	45,86	45,92	45,80	45,79	45,78
20	30,7	30,6	30,66	30,68	30,66	30,67	30,66
21	33,9	33,8	33,77	33,86	33,83	33,78	33,78
22	32,4	32,3	32,12	32,22	32,28	32,36	32,35
23	71,3	65,3	72,58	72,64	65,42	65,07	65,24
24	11,6	13,1	12,41	12,44	13,07	12,63	12,71
25	15,7	15,8	16,49	16,46	15,78	15,83	15,92
26	16,9	16,8	17,05	16,76	16,81	16,94	16,89
27	26,0	25,8	25,99	25,98	25,77	25,75	25,79
28	178,2	177,8	184,19	178,16	178,19	183,18	183,38
29	33,1	33,1	33,07	33,10	33,08	33,06	33,05
30	23,6	23,6	23,58	23,63	23,62	23,57	23,56
CO ₂ Me	51,6	51,3		51,48	51,48		
COMe		170,1			170,90		
		170,5			170,60		
COMe					21,19		
					20,89		
C(CH ₃) ₂			98,98	98,88			
C(CH ₃) ₂			19,37	19,37			
			29,82	29,88			

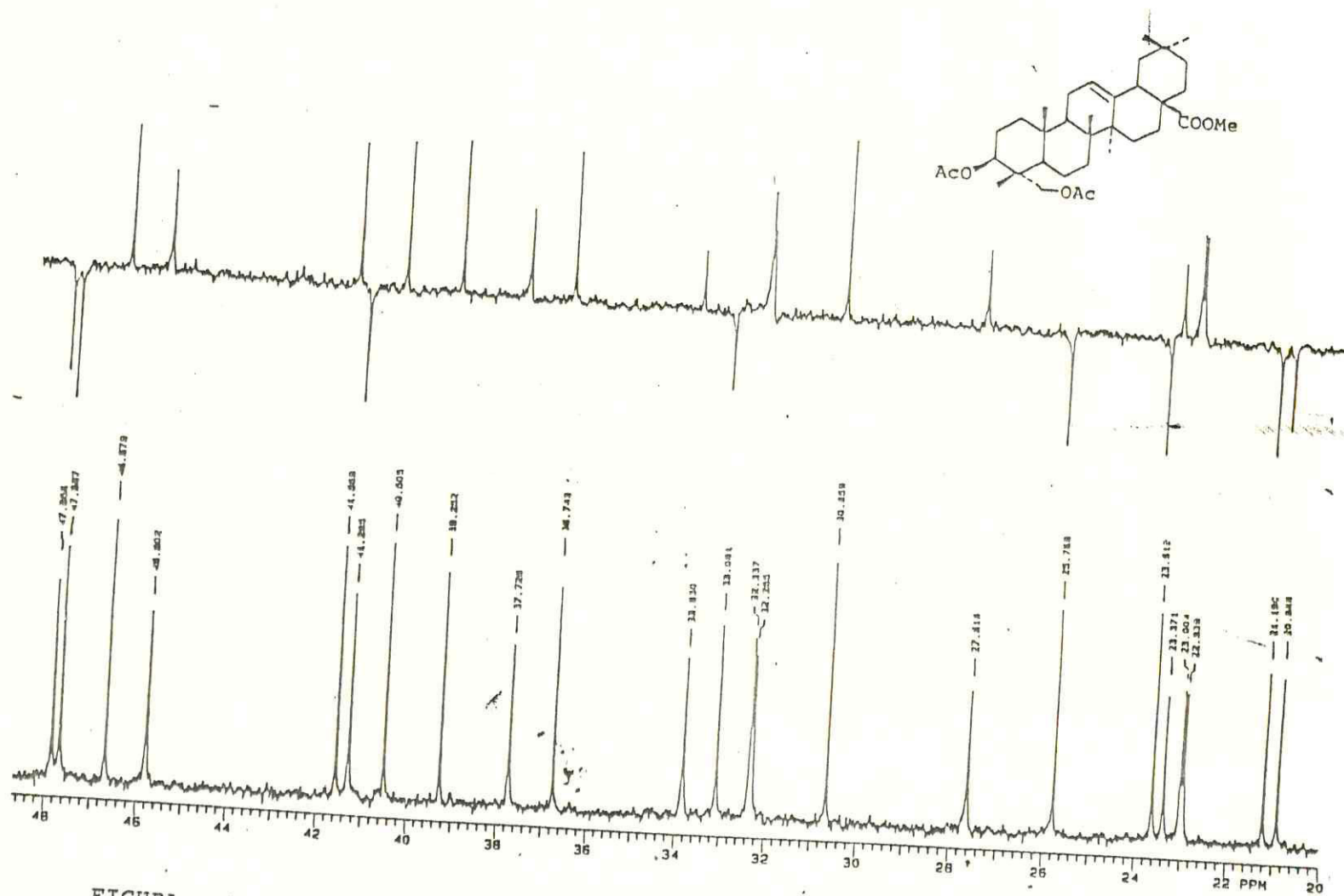


FIGURA - 20 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de SS-6MeAc
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

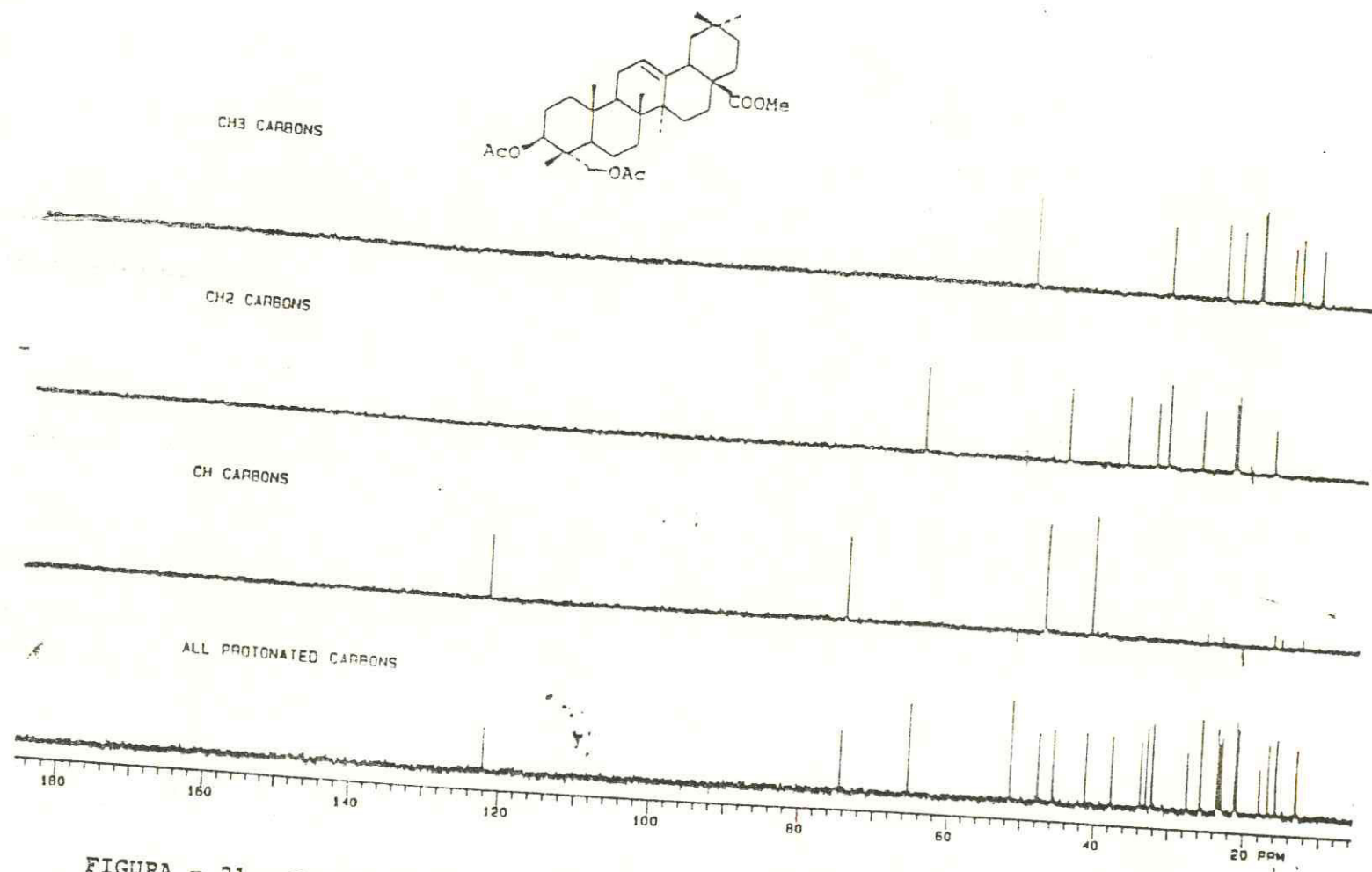


FIGURA - 21 - Espectro de RMN ¹³C (DEPTGL) de 5s-6MeAc
(valor S-CDCL₃, 75 MHz)

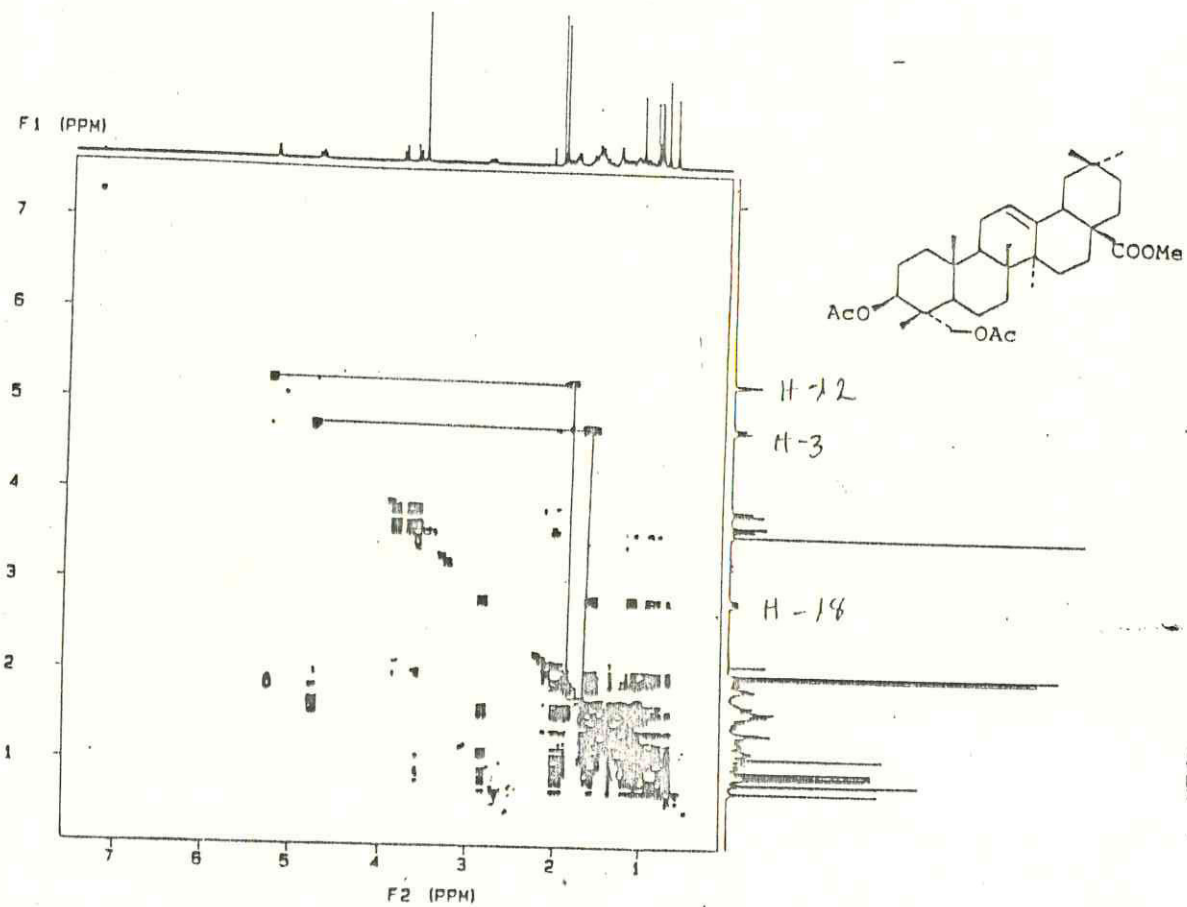


FIGURA - 22 - Espectro em 2D, ^1H - ^1H (COSY) de 5s-6MeAc
(valor δ - CDCl_3)

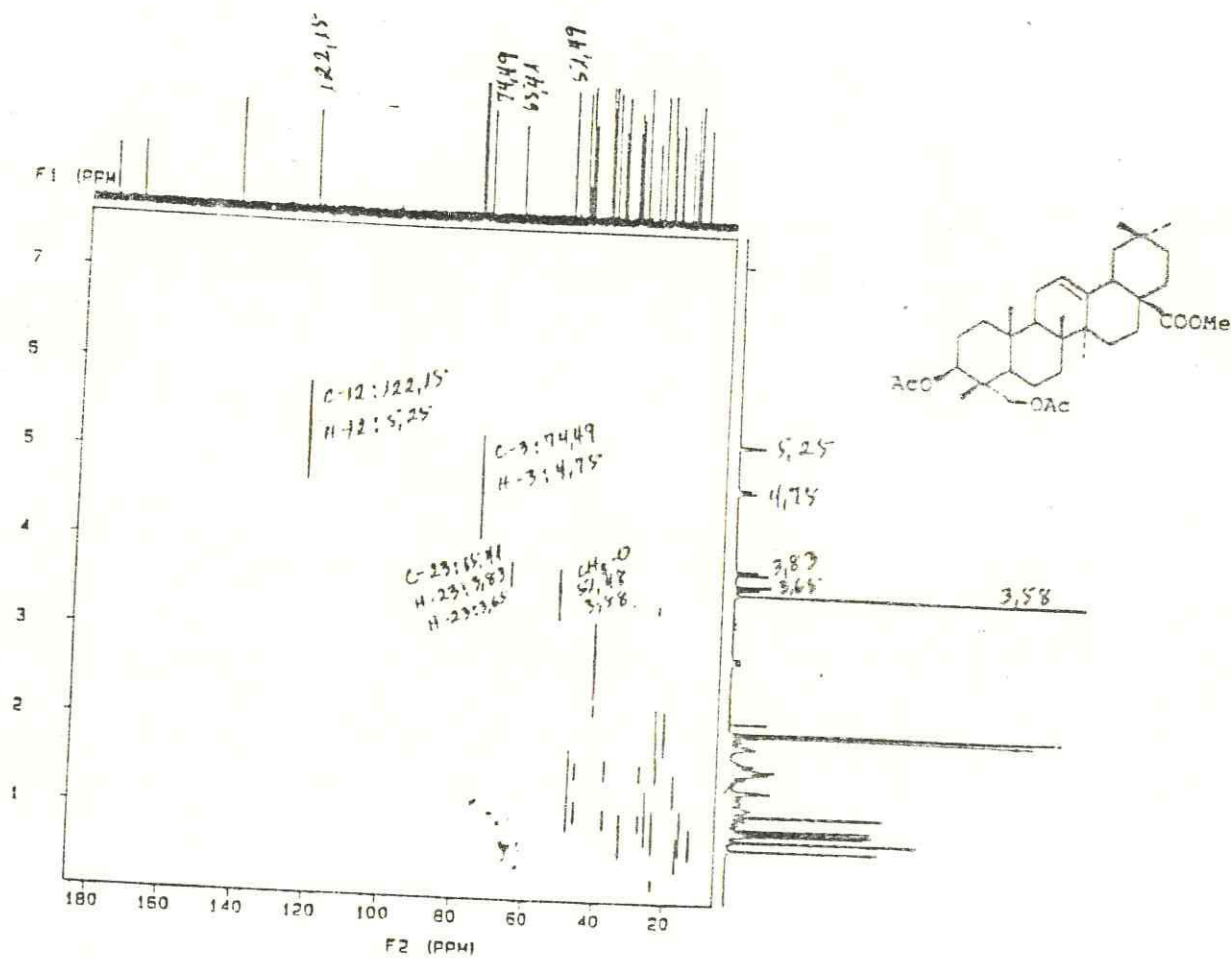


FIGURA - 23 - Espectro em 2D, ^{13}C - ^1H (HETCOR) de Ss-6MeAc
(valor 6- CDCl_3)

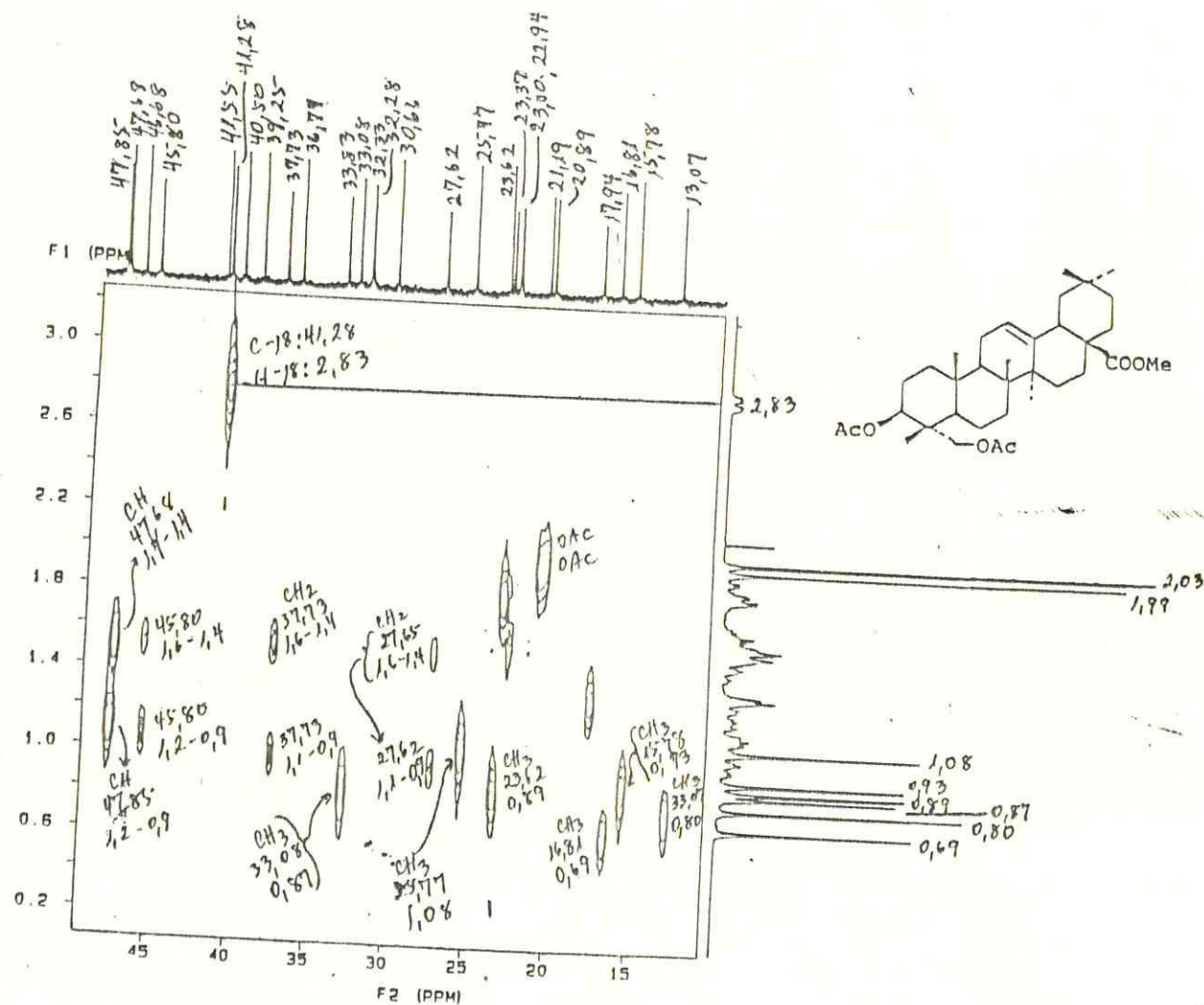


FIGURA - 23a - Espectro em 2D, $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (HRTCOR) de Ss-6MeAc
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$)

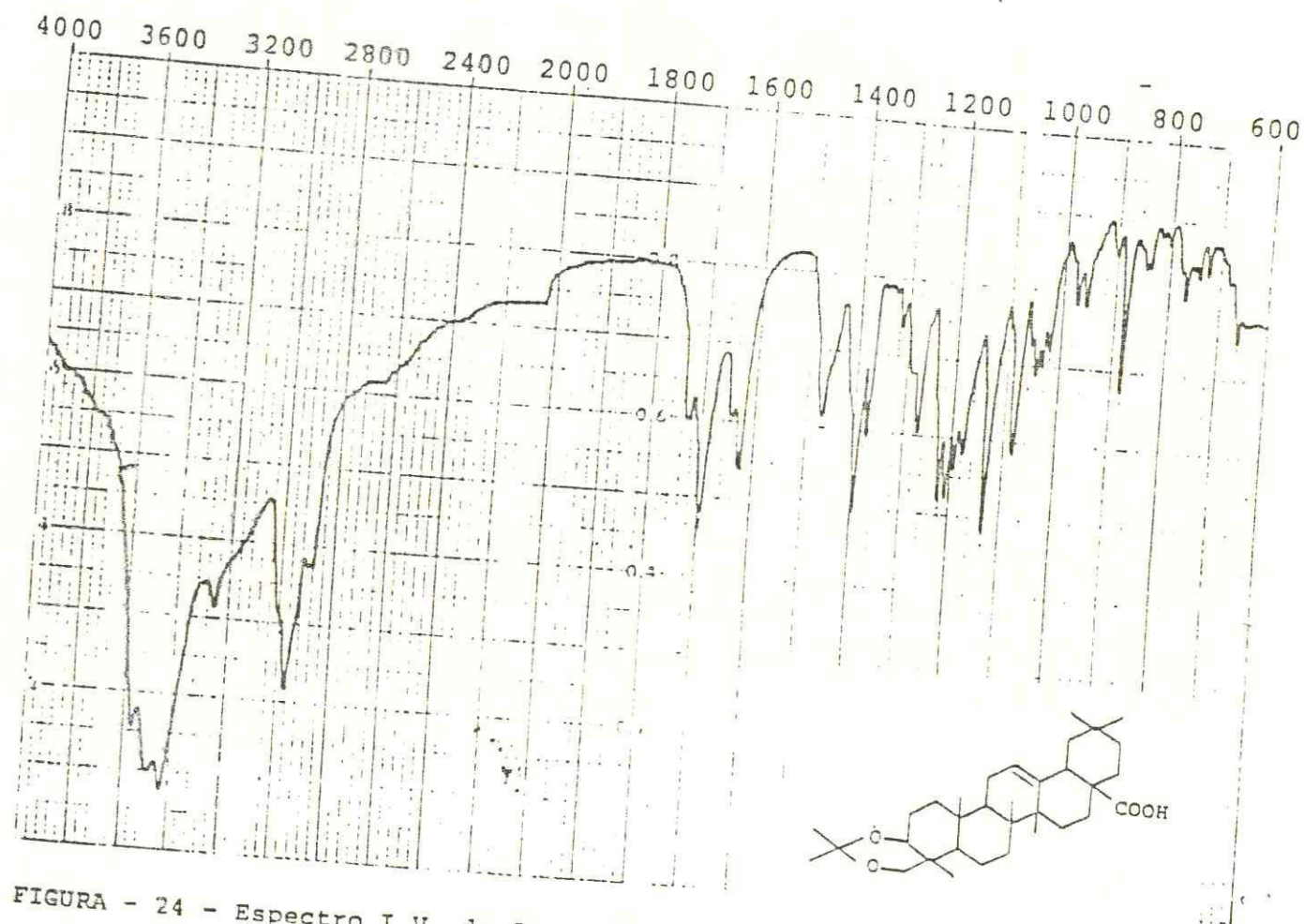


FIGURA - 24 - Espectro I.V. de Ss-5 (acetônio)
Fase: KBr

O espectro do I.V. de Ss-5 (Fig. 24) apresentou absorções características de carboxila em 3400 e 1700cm^{-1} , o que foi enfatizado pelo desaparecimento da absorção em 3400cm^{-1} e deslocamento da absorção referente a carbonila para 1739cm^{-1} no seu derivado metilado (Fig. 25). Em ambos os espectros destaca-se uma absorção em 1380cm^{-1} que pode ser associada a um grupo isopropilidênico.

A análise comparativa dos espectros de RMN ^1H de Ss-5 (Fig. 26) e Ss-5Me (Fig. 27) mostrou que as duas substâncias apresentam certas similaridades estruturais com exceção do sinal simples a $3,60\delta$ de Ss-5Me correspondente a metoxila como esperado. A comparação destes espectros com o RMN ^1H de Ss-6Me mostrou concordância parcial da estrutura molecular, sendo evidente o sinal correspondente ao H-3 que apareceu em campo mais alto a $3,48\delta$ (dd, $J = 10,8$ e $3,9\text{Hz}$) e também as absorções $1,42$ (s) e $1,38\delta$ (s) associadas a hidrogênios isopropilidênicos já indicadas pelo infravermelho (1380cm^{-1}).

De acordo com a literatura, dependendo da estereoquímica dos substituintes e da conformação do anel, triterpenos 1,3-glicóis em C-3, C-23 ou C-24 podem formar acetônídios que são classificados em 4 tipos (A, B, C e D). Estes podem ser distinguidos pelos sinais dos grupos metila isopropilidênicos e dos hidrogênios metilênicos do anel

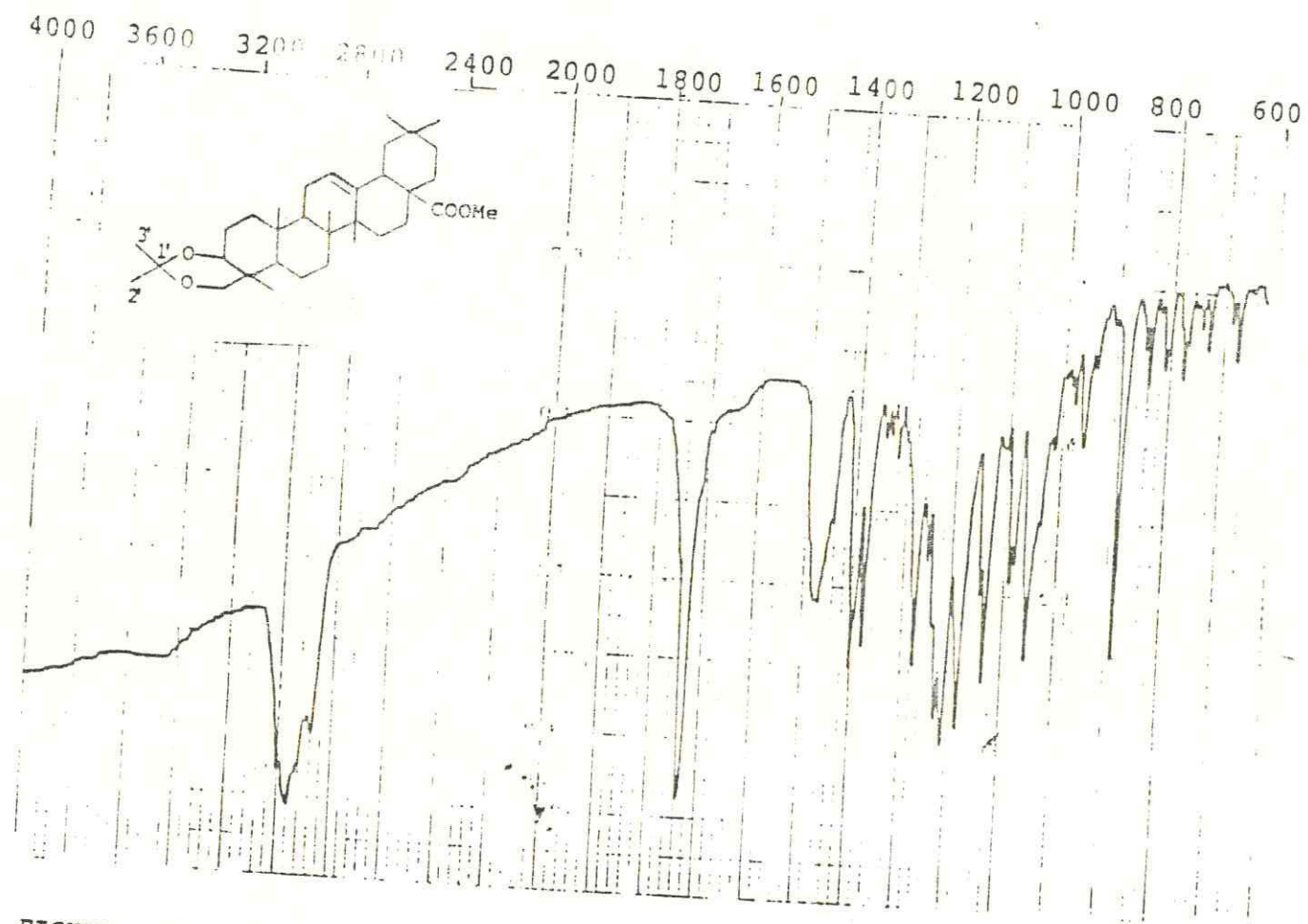


FIGURA - 25 - Espectro I.V. de Ss-5Me (acetato de ester metílico)
Fase: KBr

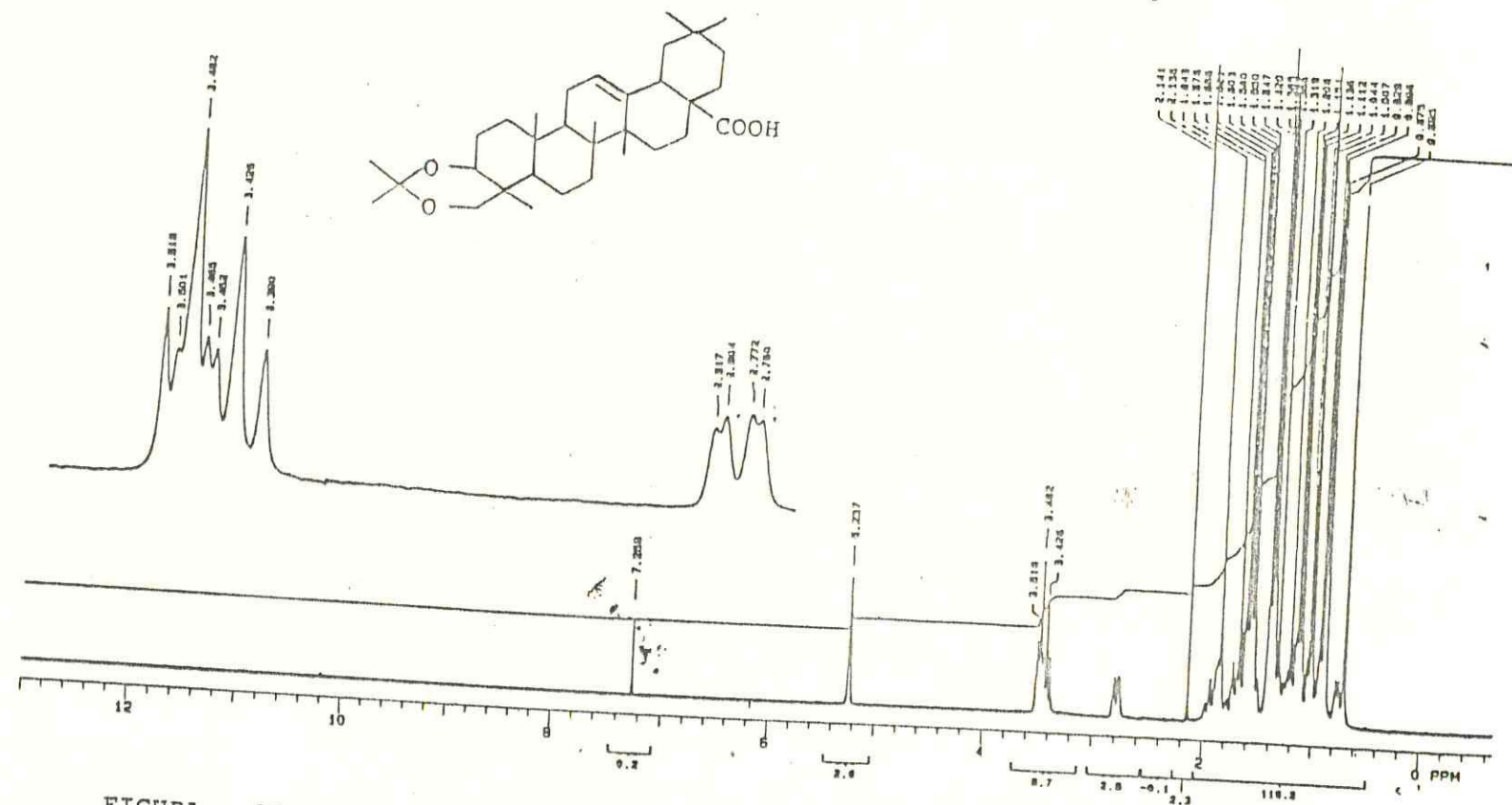


FIGURA - 26 - Espectro de RMN ^1H de Ss.5 (acetonióidio)
(valor 6- CDCl_3 , 300MHz)

m-dioxana²⁸. O acetônido tipo C assume conformação trans decalina não havendo interações e portanto mais estável, sendo de obtenção relativamente fácil. Assim as absorções a 3,4 δ (d, J = 10,8Hz) e 3,41 δ (d, J = 10,8Hz) de um sistema AB, foram atribuídas aos hidrogênios metilênicos de um anel m-dioxana.

A análise comparativa do espectro de massa de Ss-5 (Figura 5a) e Ss-5Me (Figura 6a) comprovou pelo fragmento m/z 203 existência de carboxila nos anéis D/E como também a formação do acetônido pelo fragmento m/z 249 (Quadros 5 e 6).

O espectro de RMN ¹³C de Ss-5 (Fig. 28) e Ss-5Me (Fig. 27) confirmam também como no RMN ¹H a coincidência estrutural das moléculas e a presença da absorção em 51,48 δ reafirmou a existência da carboxila em Ss-5. Ambos os espectros mostraram a existência do acetônido pelas absorções 98,98 δ indicada para C(CH₃)₂ e a 19,37 e 29,82 δ associadas as metilas geminadas. As evidências descritas acima, assim como a confrontação com os dados espectrais de RMN ¹³C de Ss-6MeAc, Mod. 1 e Mod. 2 (Tab. 7) somados aos dados fornecidos pelas técnicas espectroscópicas de Ss-5 e Ss-5Me como APT (Fig. 30 e 31), DEPTGL (Fig. 32 e 33), e o espectro bidimensional HETCOR (Fig. 34 e 35) onde podem ser visualizadas as principais correlações ¹³C-¹H indicaram respectivamente para Ss-5 e Ss-5Me as estruturas do acetônido de hederagenina e seu derivado metilado.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

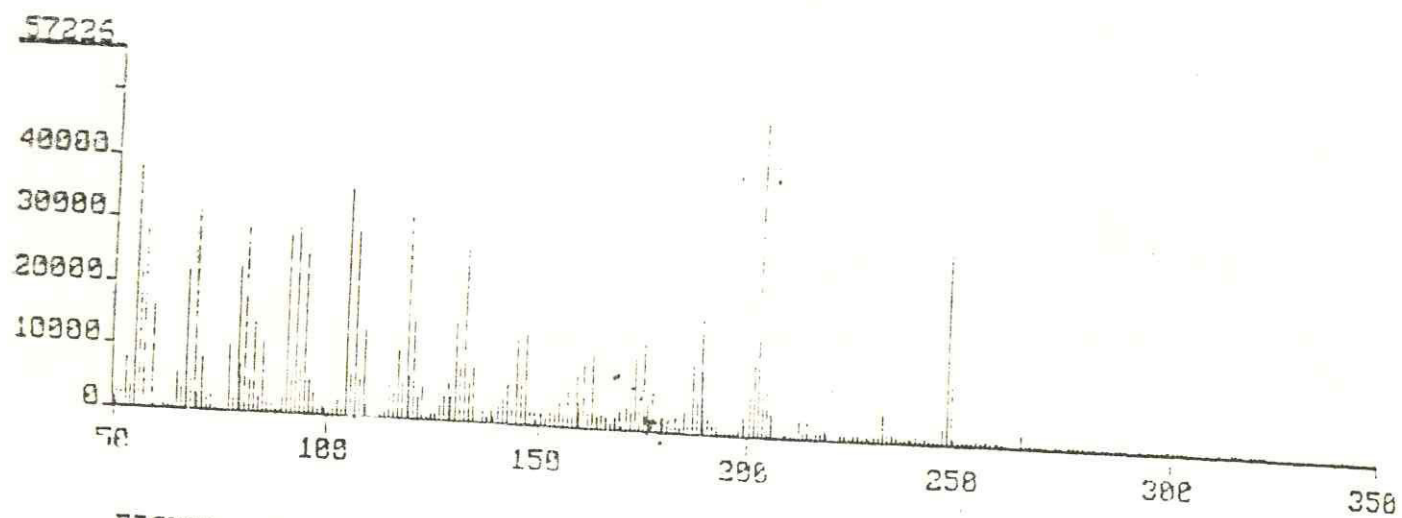
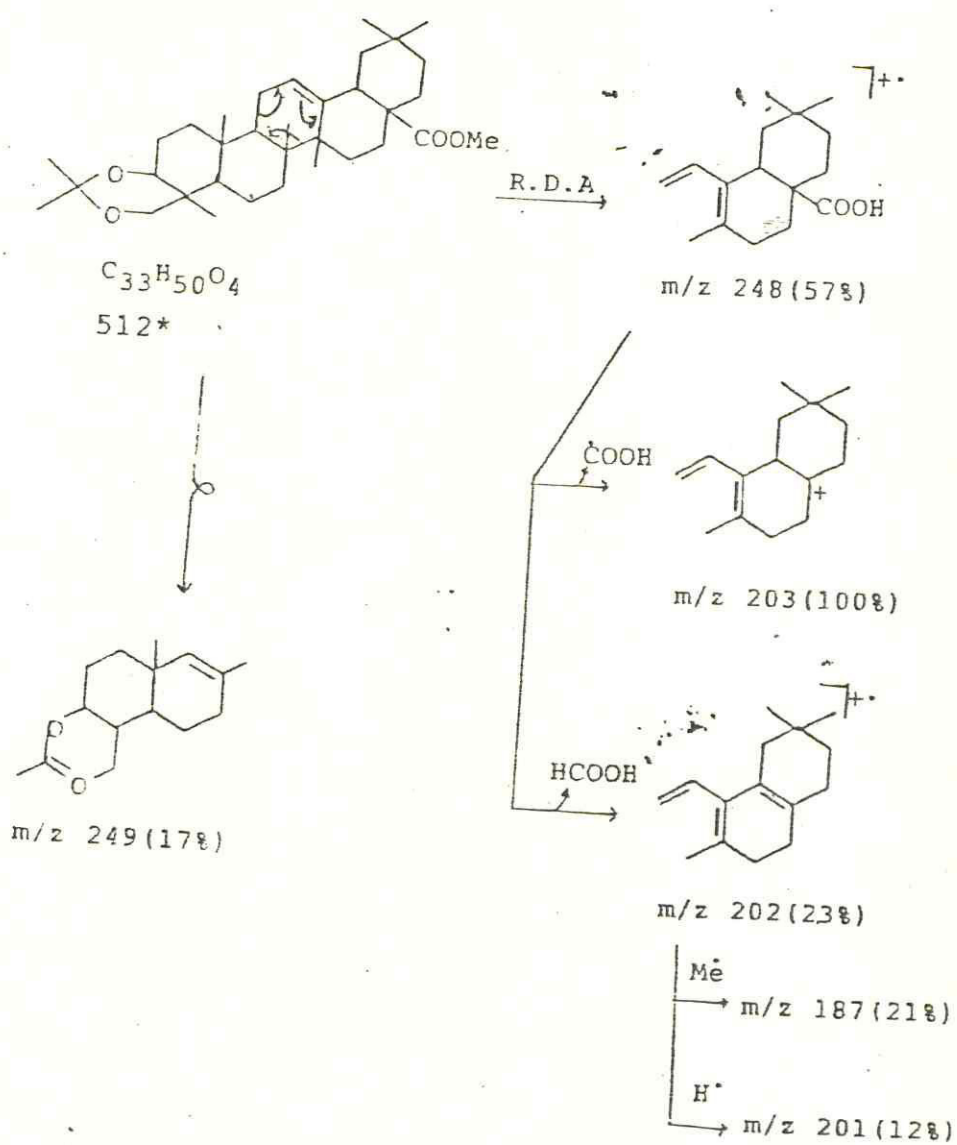


FIGURA - 5a - Espectro de massas de Ss-5

QUADRO 5 - Fragmentação proposta para Ss-5



*Não registrado

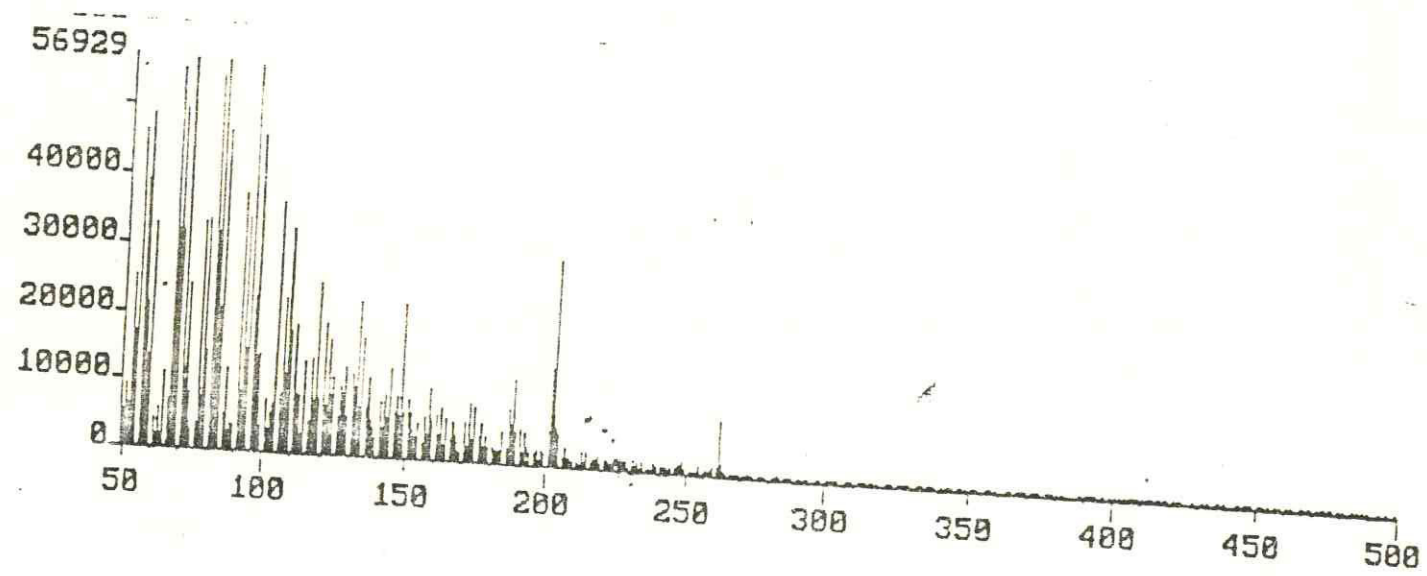
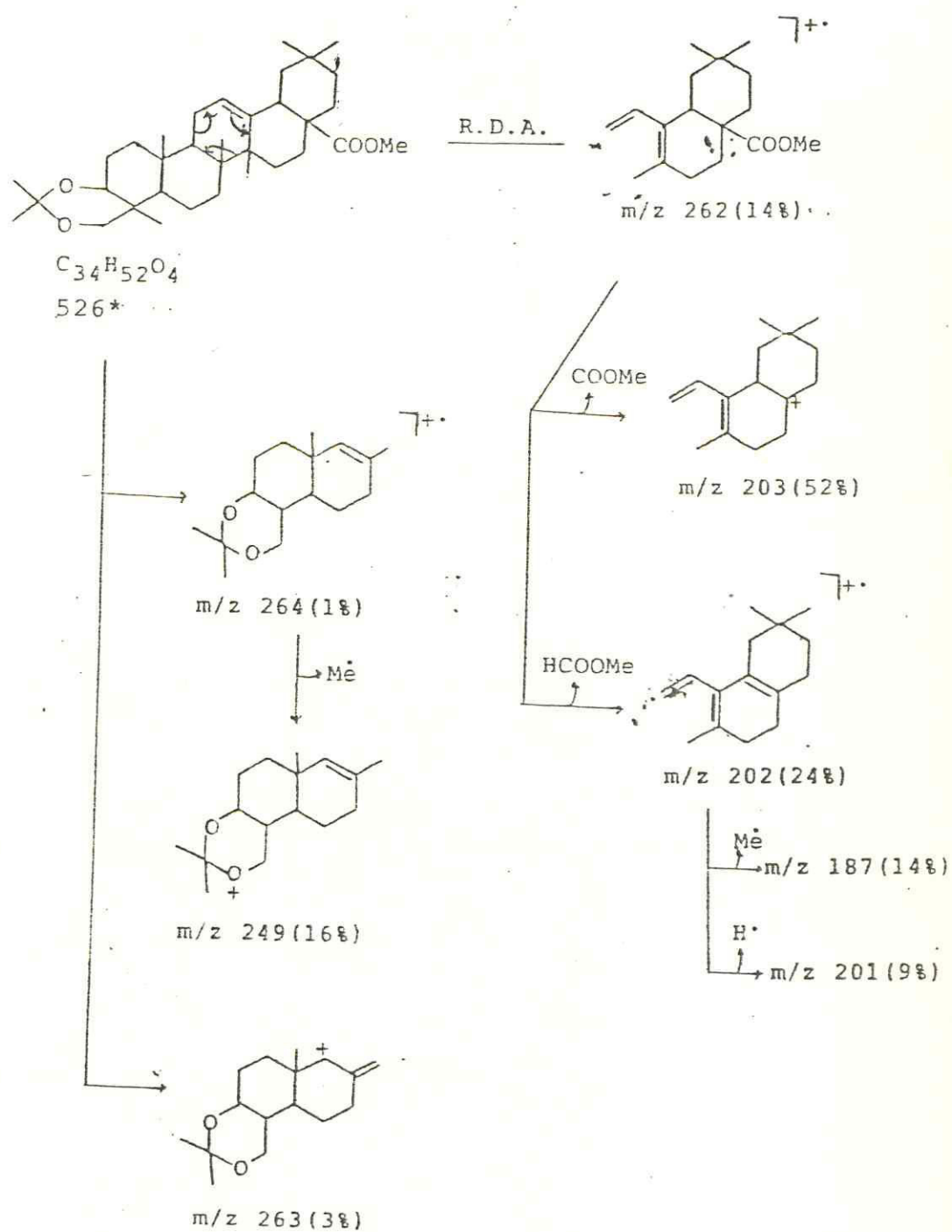


FIGURA - 6a - Espectro de massas de Ss-5Me

QUADRO 6 - Fragmentação proposta para Ss-5Me



* Não registrado

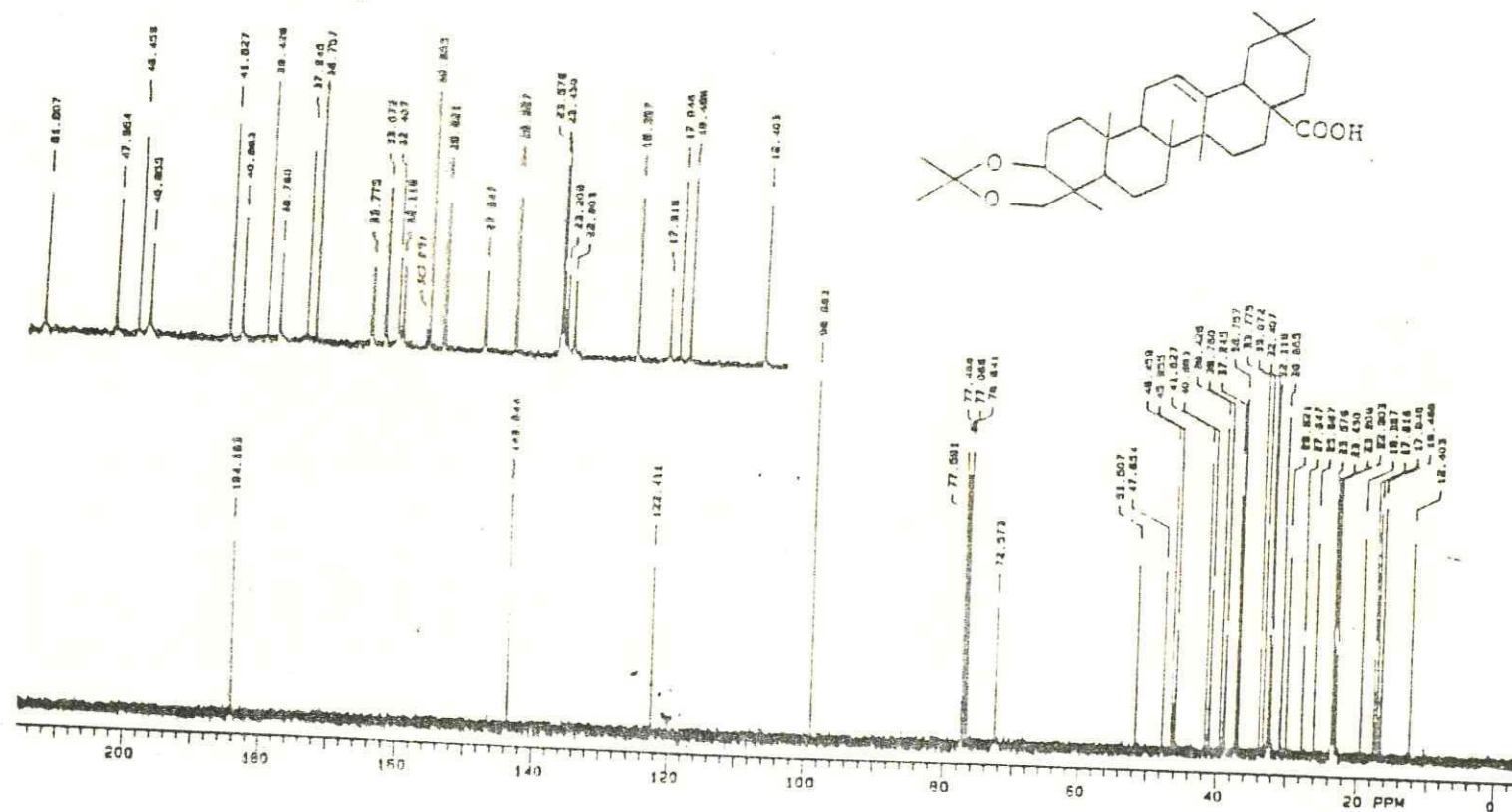


FIGURA - 28 - Espectro de RMN ^{13}C de 5s-5(acetonídeo)
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

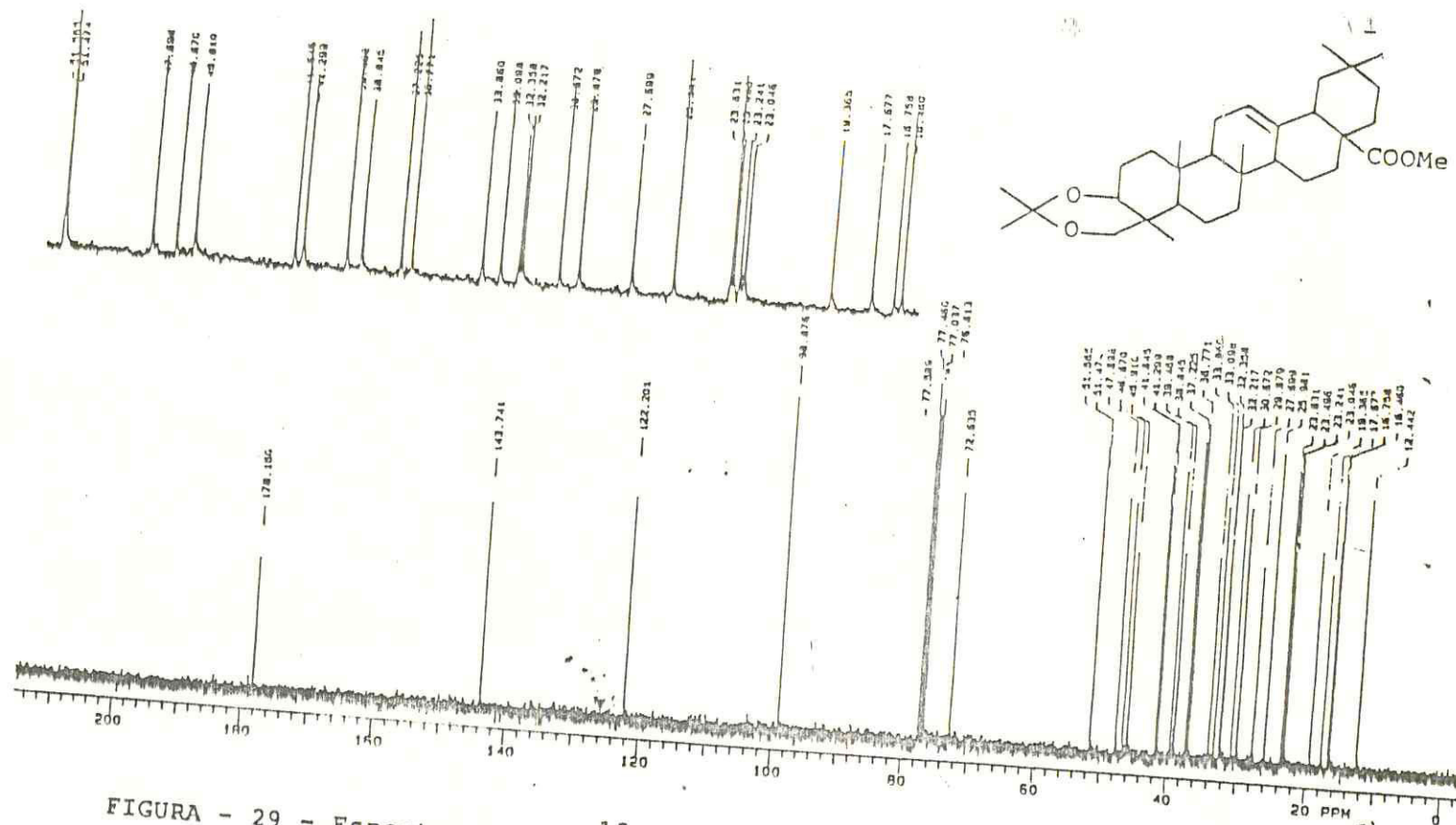


FIGURA - 29 - Espectro de RMN ^{13}C de 5s-5Me(acetonídio ester metílico)
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

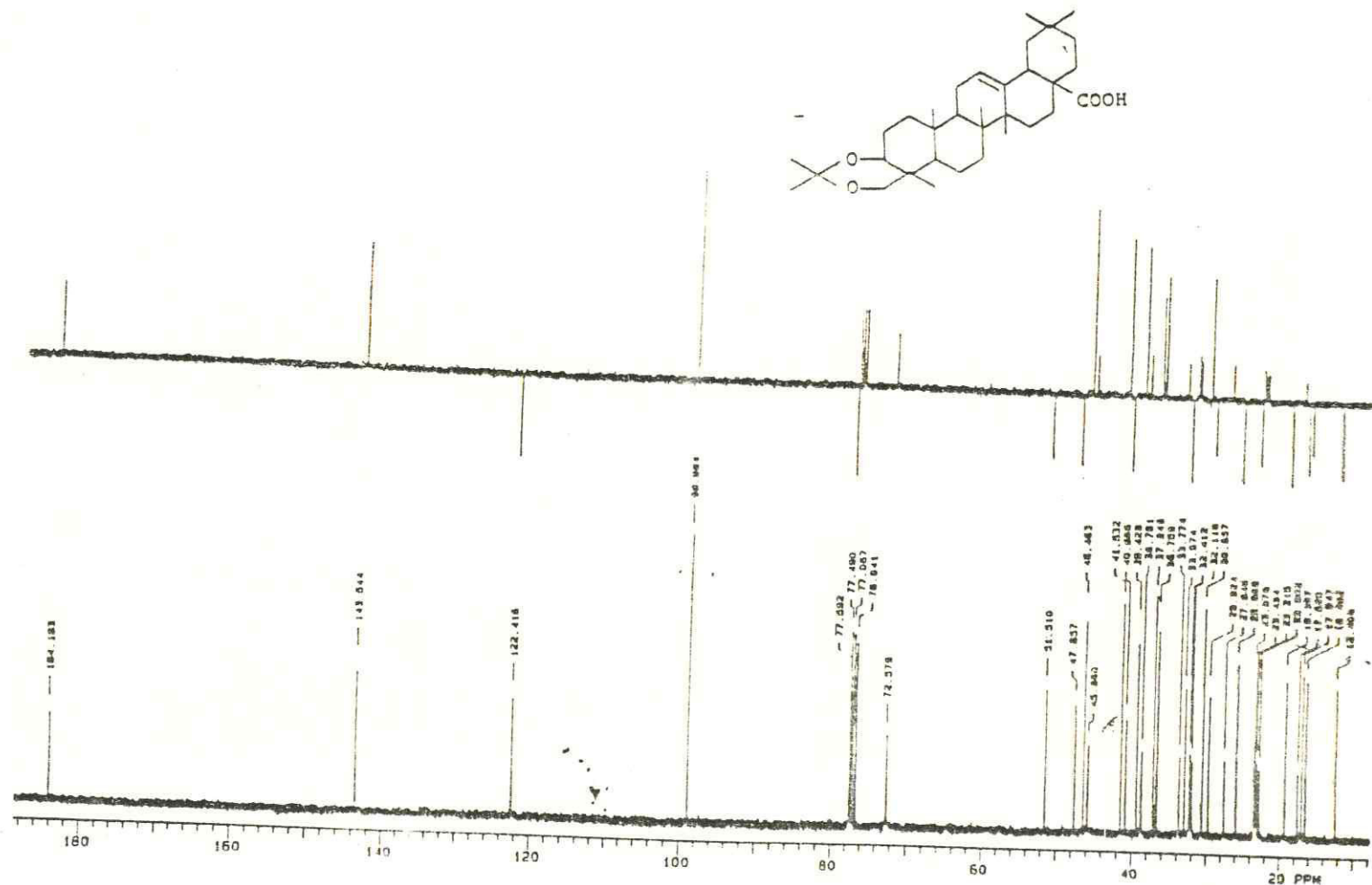


FIGURA - 30 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de Ss-5(acetonídio)
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75 MHz)

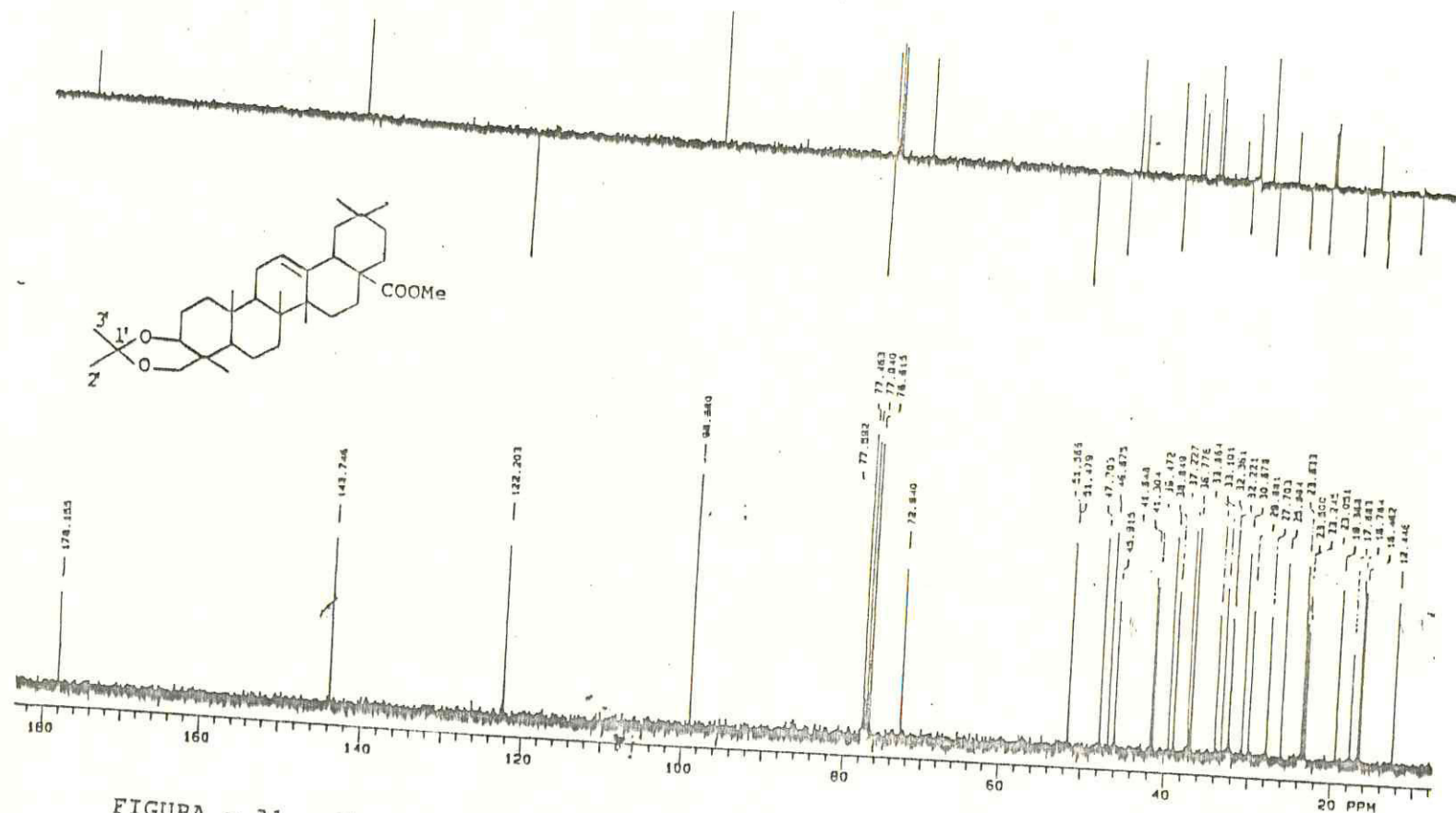


FIGURA - 31 - Espectro de RMN ^{13}C (APT) de Ss-5Me (acetônio ester metílico)
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

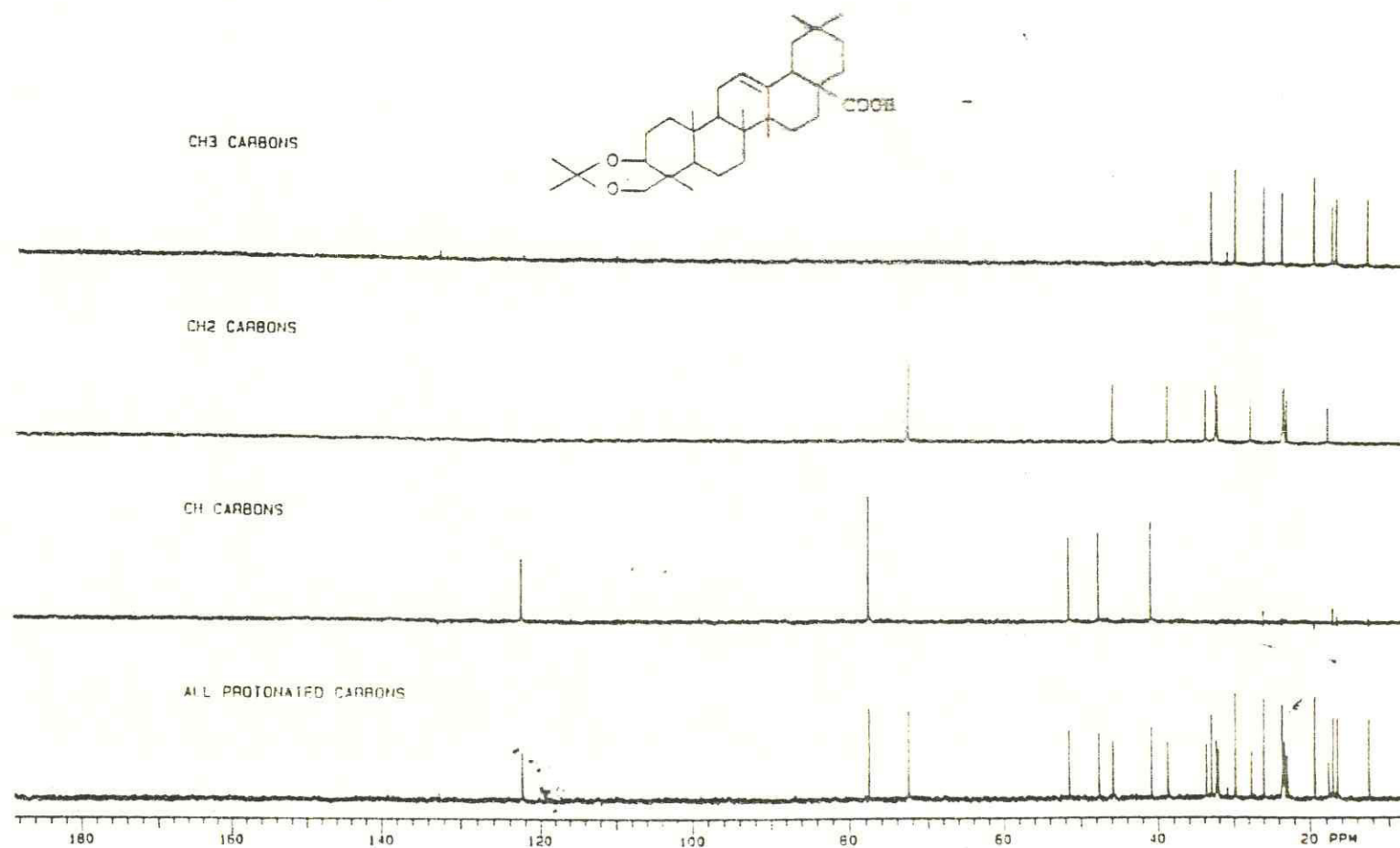


FIGURA - 32 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-5(acetonídio)
(valor δ -CDCl₃, 75MHz)

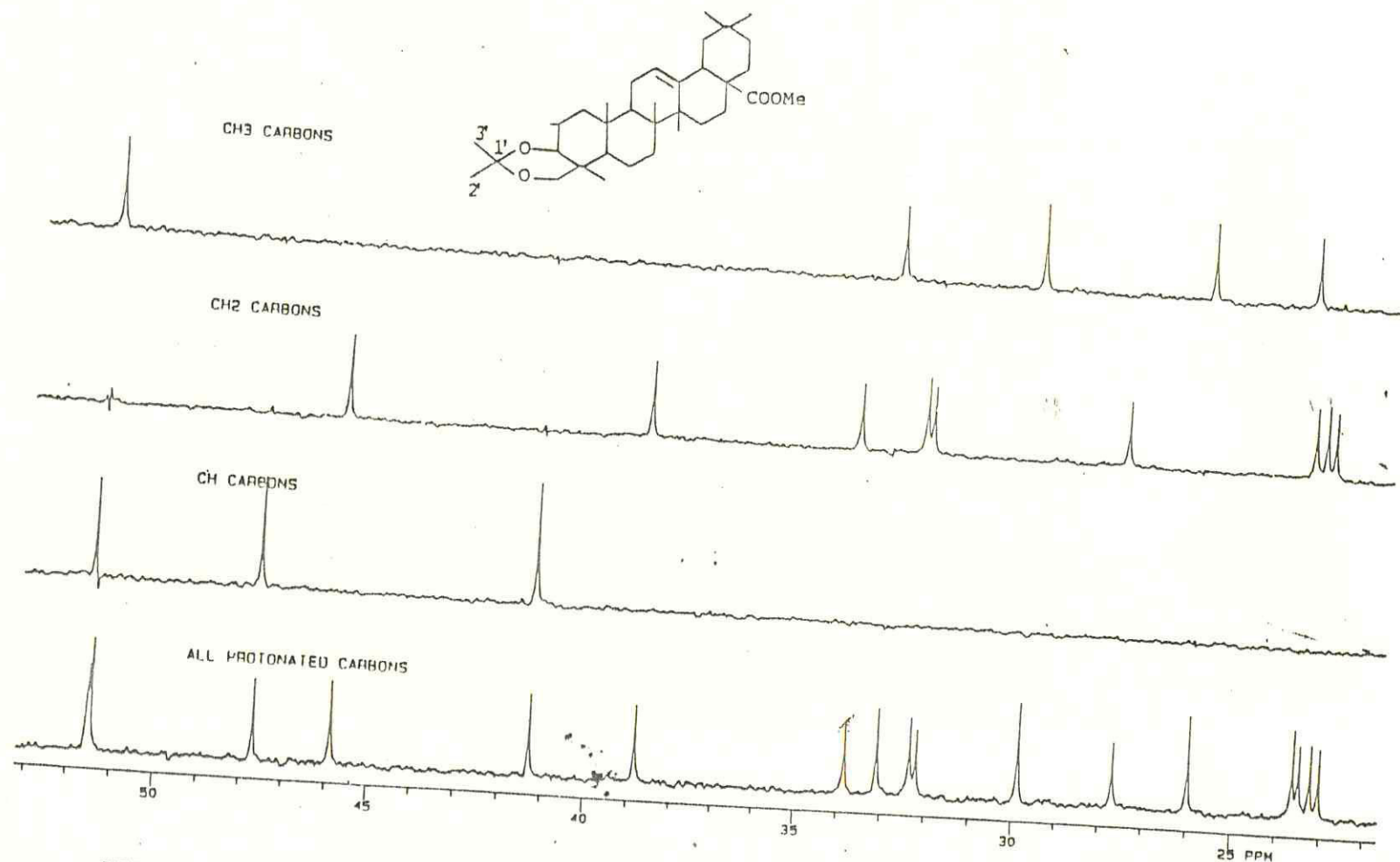


FIGURA - 33 - Espectro de RMN ^{13}C (DEPTGL) de Ss-5ME (acetoniólio ester metílico)
(VALOR $\delta\text{-CDCl}_3$, 75MHz)

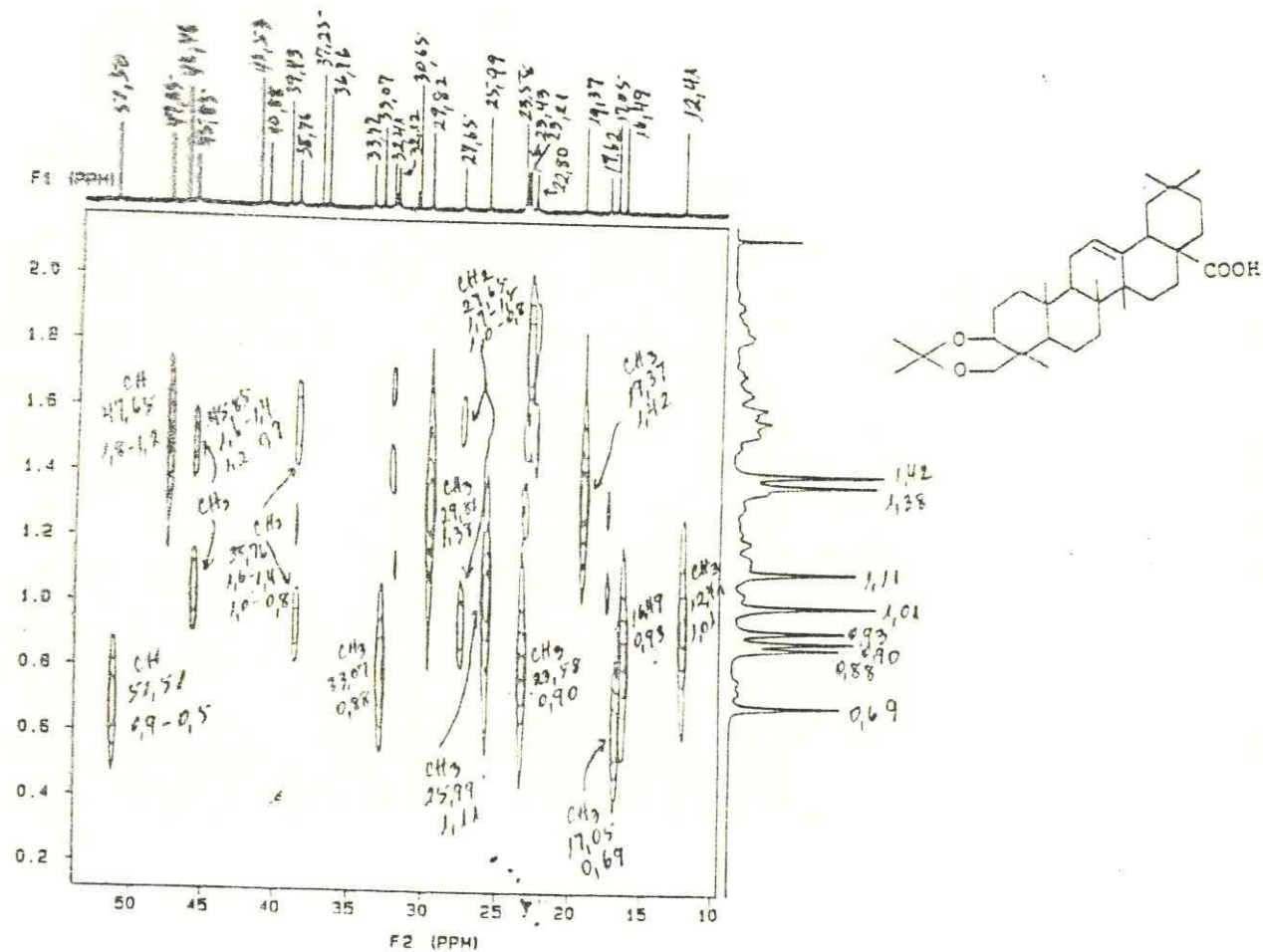


FIGURA - 34 - Espectro em 2D, $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (HETCOR) de Ss-5(acetonídio)
(valor $\delta\text{-CDCl}_3$)

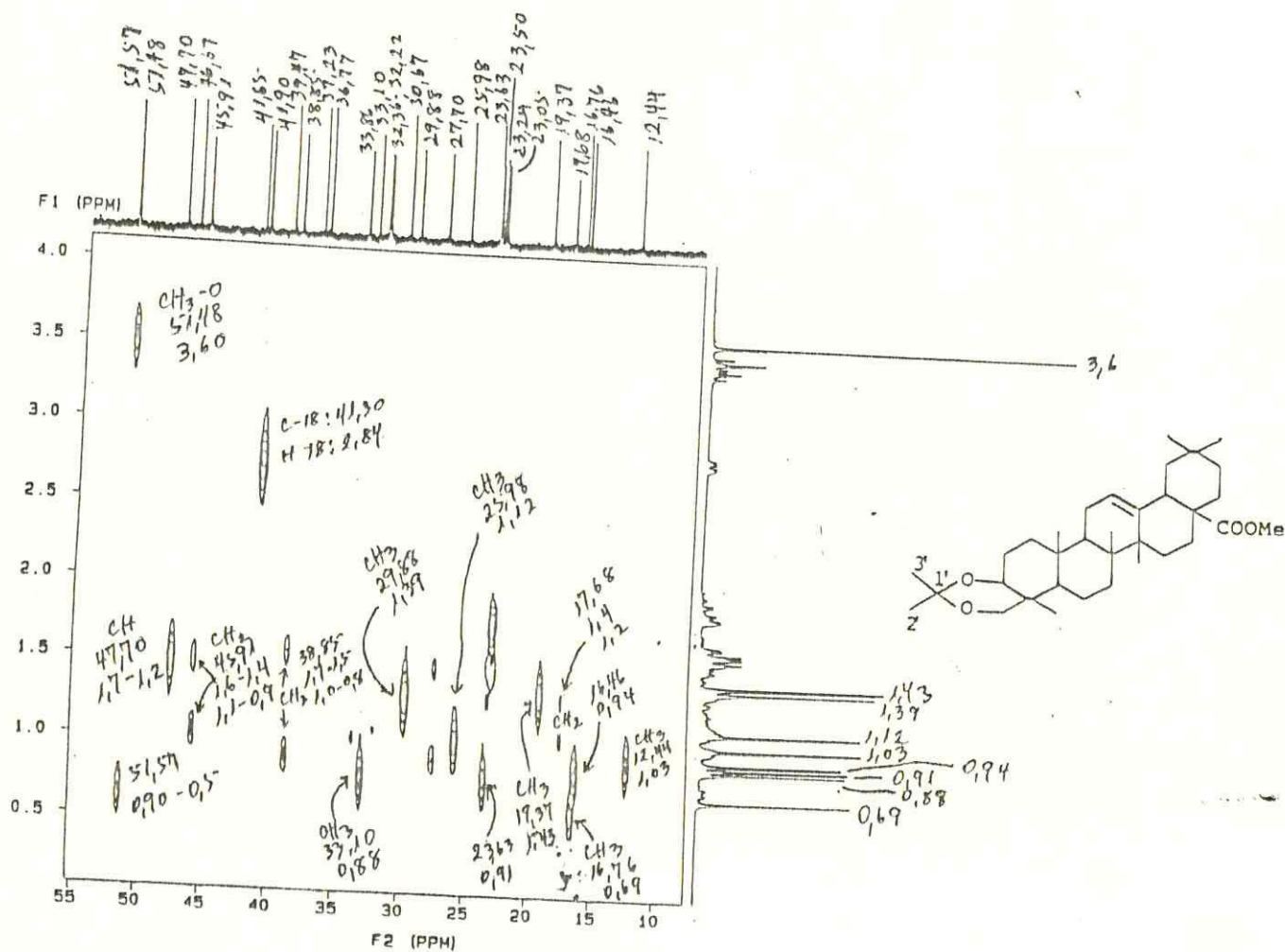


FIGURA - 35 - Espectro em 2D, $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (HETCOR) de Ss-5Me (acetônio ester metílico) (valor $\delta\text{-CDCl}_3$)

É importante observar que a literatura não relata a existência de nenhum acetônido natural o que nos levou a supor que Ss-5 é um artefato em virtude do uso de acetona em seu isolamento em coluna de sílica.

14.3 - Ss-2Ac

Da fração cloroformio-metanol após acetilação e cromatografia em coluna isolou-se uma substância denominada de Ss-2Ac.

O espectro na região de I.V. (Fig. 36) apresentou absorções tais como: em 3400cm^{-1} atribuída a hidroxila; 1745cm^{-1} indicada para carbonila; em 1640cm^{-1} correlacionada a dupla trissubstituída e em 1225cm^{-1} referente a estiramento C-O.

Pela comparação dos espectros foi constatada a correlação estrutural entre os constituintes químicos isolados desta espécie (Ss-6MeAc, Ss-5, Ss-5Me), tendo sido proposta a estrutura de um glicosídeo para Ss-2Ac, cuja aglicona é a hederagenina

O espectro de RMN ^1H (Fig. 37) além das absorções relativas a hederagenina apresentou em 5,03 δ um sinal largo e em 4,43 δ (d, J = 6,4Hz) atribuídas a prótons anoméricos de duas

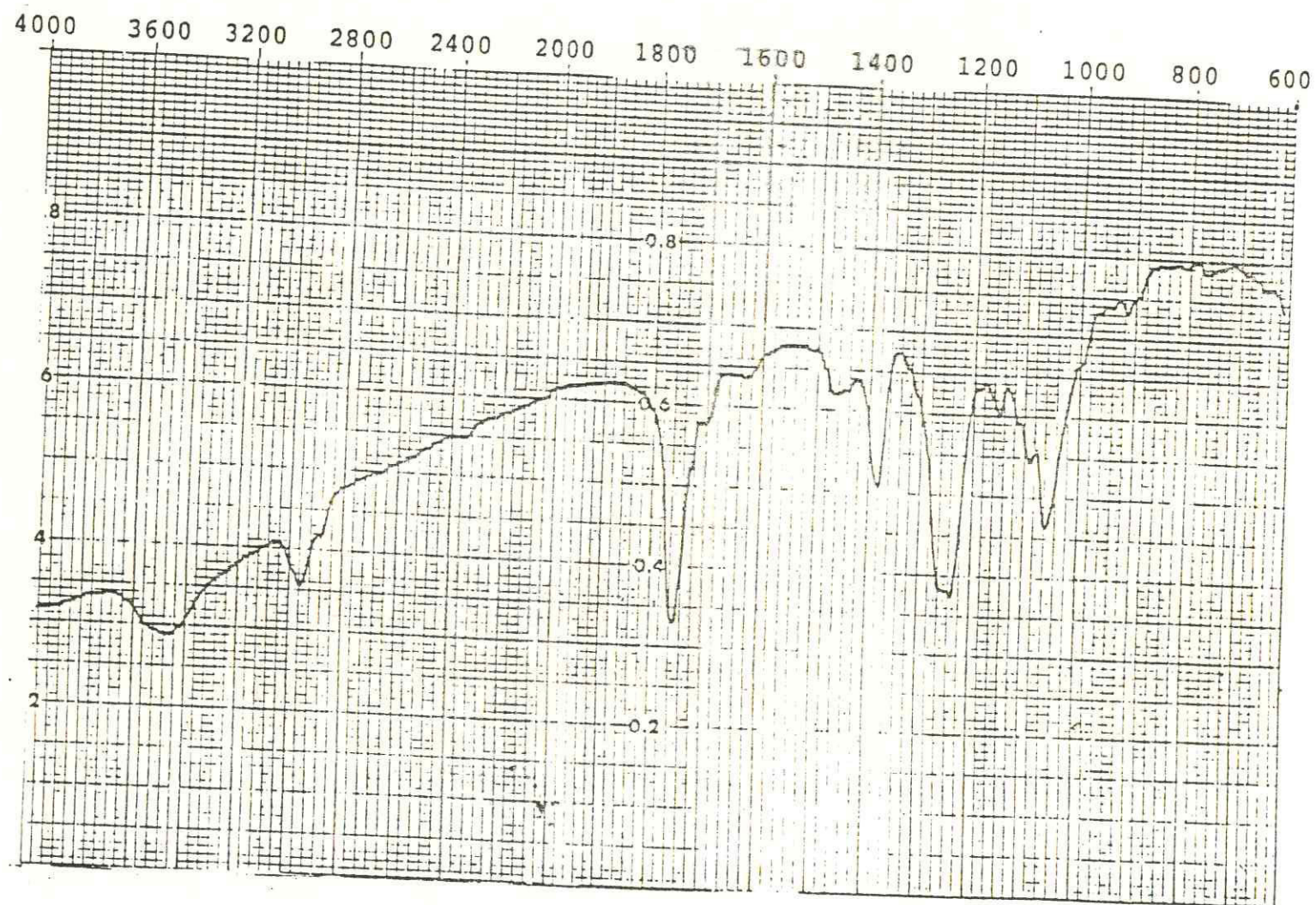
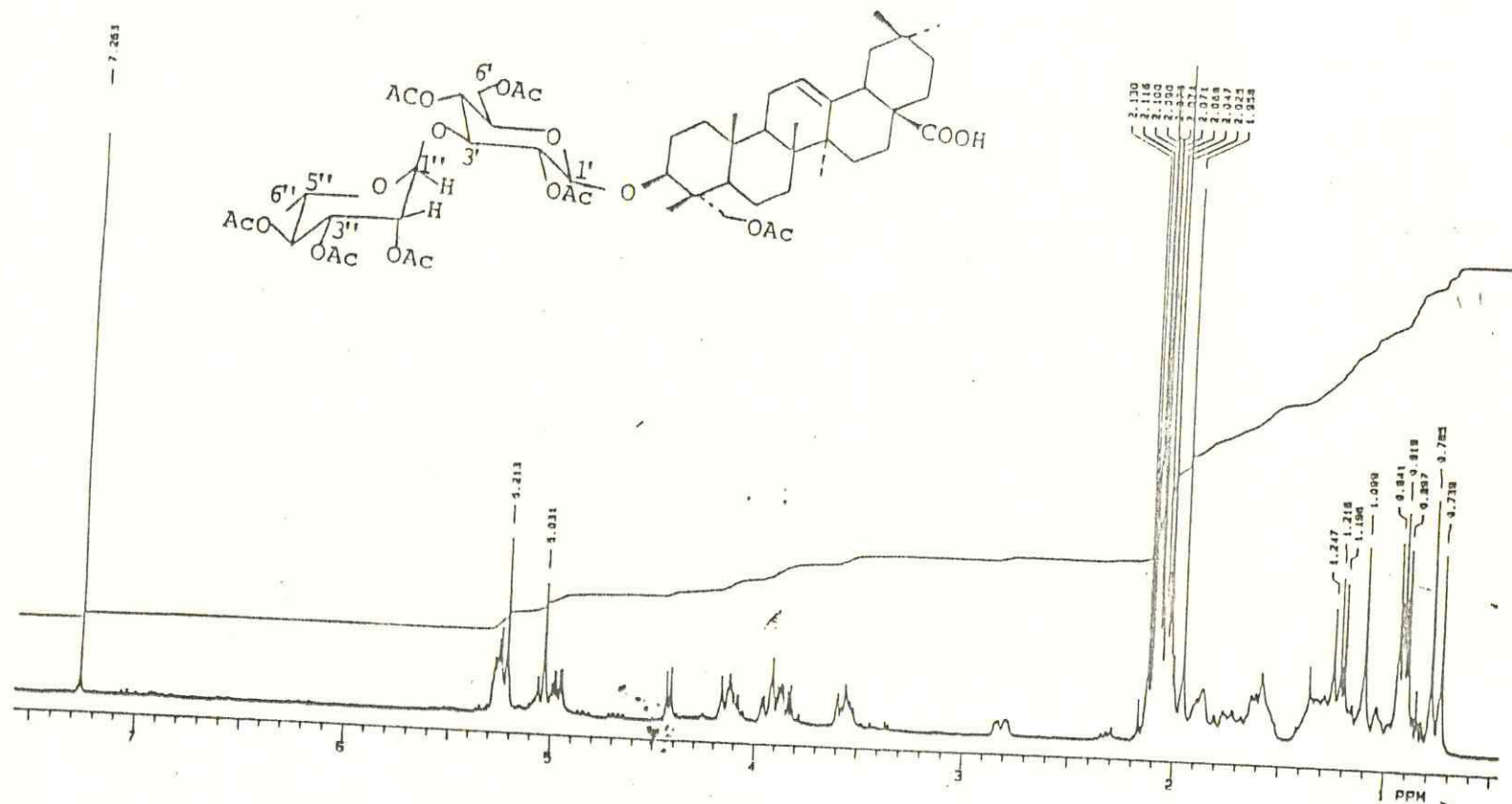
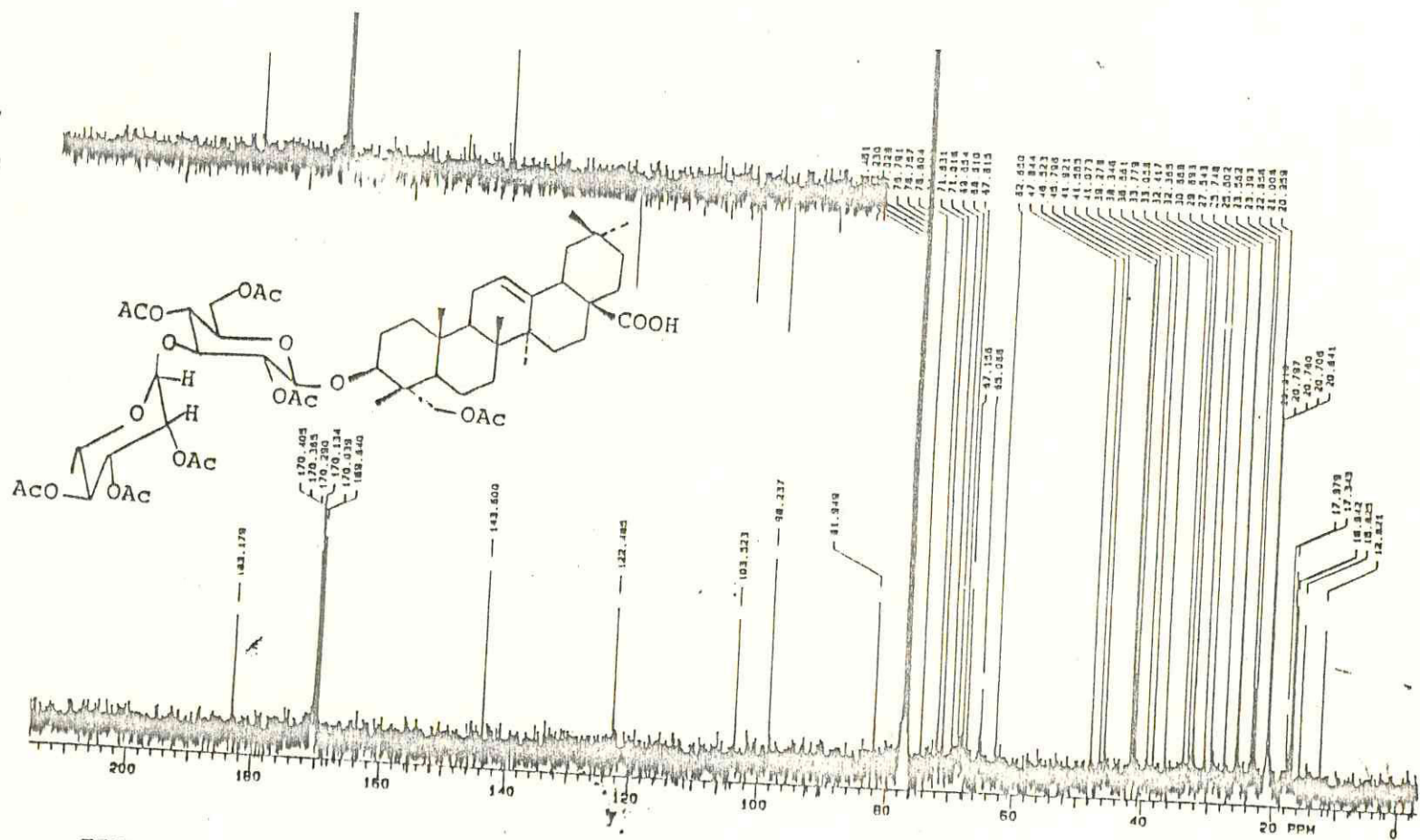


FIGURA - 36 - Espectro I.V. de Ss-2Ac
Fase: KBr



oses o que levou a supor que o glicone do glicosídeo é um dissacarídeo. A absorção em 4,43δ (d, J = 6,4Hz) foi posteriormente relacionada ao próton anomérico da glicose ligada em posição 1. A intensidade do acoplamento está em concordância com a configuração proposta uma vez que nas formas α-piranosídicas e em furanoses o valor da constante de acoplamento não ultrapassa 4,2Hz^{102, 103}. Foi observado também absorção em 3,55δ (dd, J = 10,8 e 5,0Hz) indicada para o H-3 em posição α. Foi possível, pela integração no RMN ¹H da região que vai de 4,0-5,3δ encontrar 11 hidrogênios, incluindo entre eles o próton da genina em 5,21δ (t, J = 9,5Hz) e os demais indicados para prótons carbinólicos do dissacarídeo. Ficou evidenciado também a absorção relativa aos hidrogênios metílicos da ramnose em 1,21δ (d, J = 6Hz).

Informações mais relevantes foram obtidas da análise do RMN ¹³C (Fig. 38) e do DEPTGL (Fig. 39) que confirmaram tratar-se de um glicosídeo da série de aldose cujo glicone é a hederagenina e o glicose constituinte de um dissacarídeo (α-L-ranopiranosil-(1-3)-β-D-glicopiranosil). A absorção 183,18δ atribuída a carbonila de ácido, descartou a possibilidade de glicone encontrar-se na ligação tipo éster no C-28. A possibilidade de glicosidação no C-23 foi também descartada, caso contrário o sinal correspondente a este



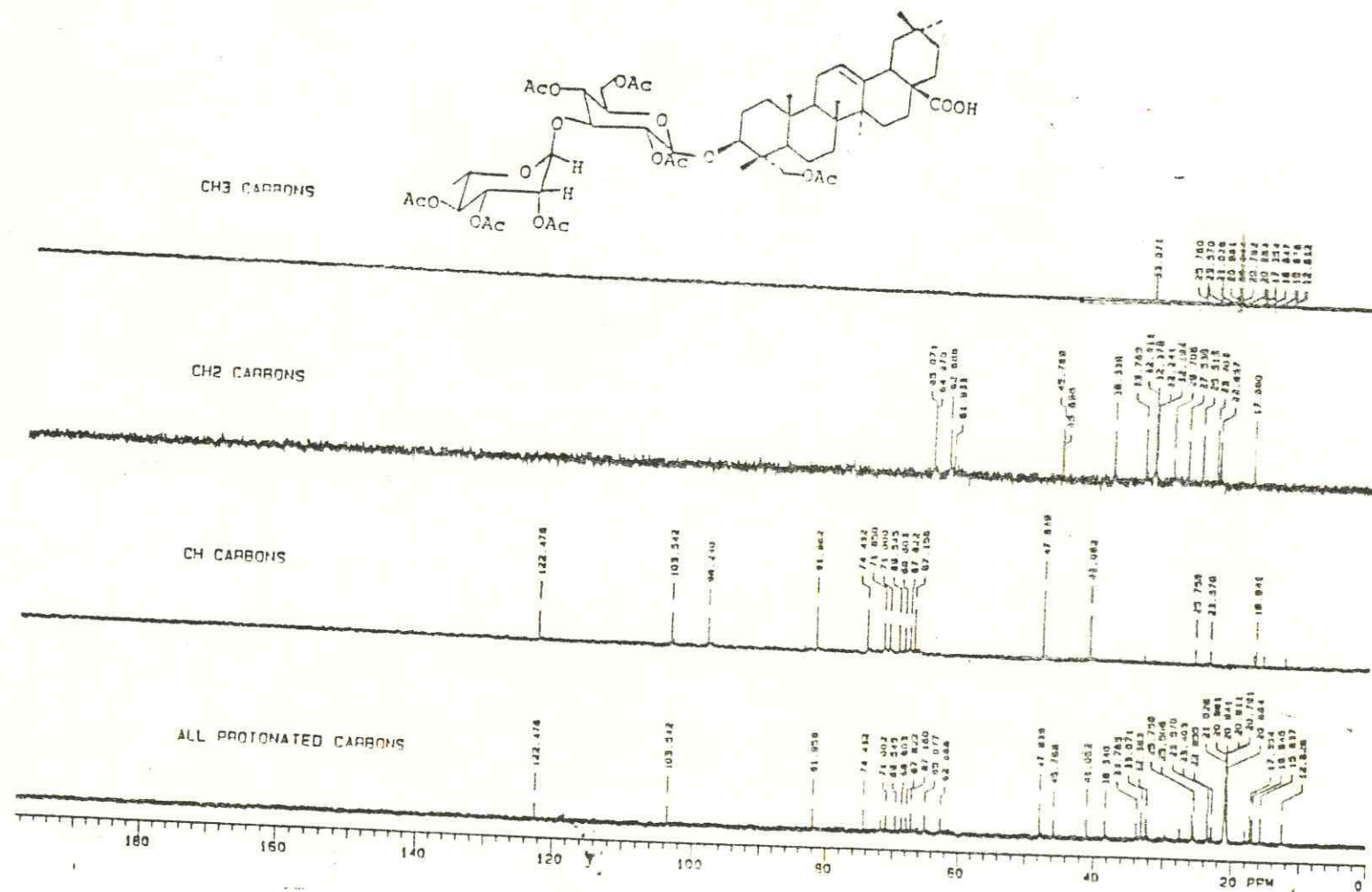


FIGURA - 39 - Espectro de RMN ¹³C (DEPTGL) de Ss -2Ac
(valor δ-CDCL₃ 75MHz)

carbono apareceria deslocado para campo mais baixo por cerca de 4 a 60¹⁰⁴. A presença de sete acetilas inclusive o do C-23, representados pelas absorções a 170,40, 170,36, 170,29, 170,13, 170,13, 170,04 e 169,646 confirmam a presença do dissacárido.

A diferença no deslocamento químico dos carbonos 2 e 4 em relação ao deslocamento químico dos mesmos carbonos das outras substâncias isoladas de *S. saponaria* (Tab. 7), ao lado da grande diferença encontrada no valor do C-3 da genina, 81,956 que se encontra desprotegido em cerca de 7,026 em relação ao C-3 da hederagenina (Tab. 7) revelou que a cadeia osídica está ligada no C-3.

Na região característica de carbonos anoméricos⁸⁹ foram observadas as absorções em 103,52 e 98,276 correlacionadas a carbonos anoméricos de duas oses as quais foram identificadas posteriormente como glicose e ramnose respectivamente.

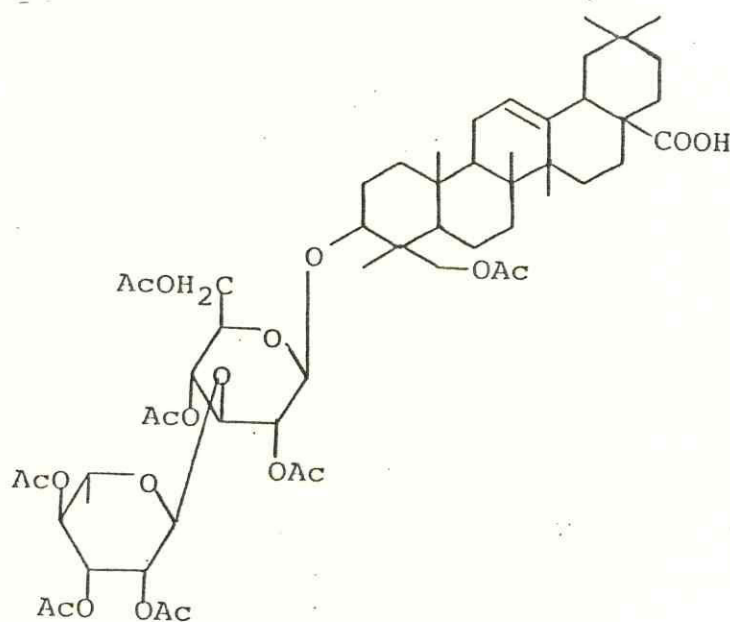
A porção glicídica foi identificada em cromatografia em camada delgada após hidrólise com ácido trifluoroacético como glicose e ramnose, identificação esta enfatizada pelos dados espectrais de RMN ¹H e RMN ¹³C e comparação com modelos da literatura.

O C-3 da glicose de Ss-2Ac encontra-se em campo mais baixo do que o do respectivo modelo o que é justificado pela ligação com o C-1 da ramnose.

TABELA 8 - Dados de RMW ¹²C do Mod. 1 (glicose peracetilada)¹⁰⁵, Mod. 2 (ramnose peracetilada)¹⁰⁶ e glicona de Ss-2Ac

C	Mod. 1	Glicona de Ss-2Ac
1'	91,4	103,54
2'	69,9	67,16
3'	72,4	74,44
4'	67,9	67,81
5'	72,7	71,83
6'	61,5	62,69
	Mod. 2	
1''	98,29	98,24
2''	69,65	69,55
3''	68,90	68,61
4''	71,09	71,02
5''	66,99	67,16
6''	17,45	17,35

As informações obtidas com a comparação do RMN ^{13}C da porção osídica com modelos da literatura (Tab. 8) somados às observações de HARIHARAN & RANGASSWAMI¹⁰⁷ segundo as quais, açúcares da série D ocorrem geralmente com ligações β -glicosídicas e açúcares da série L em ligações α , foi possível concluir de que Ss-2Ac é o ácido 3β -O-[α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glicopiranosil]-23-ol-olean-12(13)-en-28-óico peracetilado.



Ácido 3β -O-[α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glicopiranosil]-23-ol-olean-12(13)-en-28-óico peracetilado.

14 4 - Ss-3Ac

Ss-3 foi isolado a partir de uma fração mais polar do extrato cloroformio:metanol. O material ainda impuro foi acetilado nas condições usuais, sendo posteriormente cromatografado em coluna de sílica e eluído com hexano-acetona 10%, fornecendo Ss-3Ac.

O espectro na região do I.V. (Fig. 40) de Ss-3Ac apresentou absorções em: 2960cm^{-1} relativa a porção alifática do composto; 1740cm^{-1} referente a carbonila de éster e 1735cm^{-1} atribuída a deformação angular simétrica de metila além de bandas em 1225 e 1050cm^{-1} correlacionadas a estiramento C-O.

Maiores informações foram obtidas do espectro de RMN ^1H (Fig. 41) que confirmou tratar-se de um glicosídeo triterpenoidal da série oleano Δ^{12} -insaturado. O sinal a 5,28 δ foi indicado para próton olefínico; as absorções a 3,53 δ (dd, J = 11,8 e 4,2Hz) e 2,83 δ (dd, J = 13,8 e 3,6Hz) foram atribuídas ao H-3 e H-18 respectivamente, ambos axiais; as absorções em 3,94 δ (d, J = 12,6Hz) e 3,58 δ (d, J = 12,6Hz) foram correlacionadas a hidrogênios metilênicos integrantes de um sistema AB representado pelo grupo CH_2OAc no C-4 em equatorial; a presença de apenas seis sinais simples a 1,12, 0,96, 0,93, 0,91, 0,79 e 0,76 δ indicadas para metilas terciárias mostrou claramente que dois grupos metila do

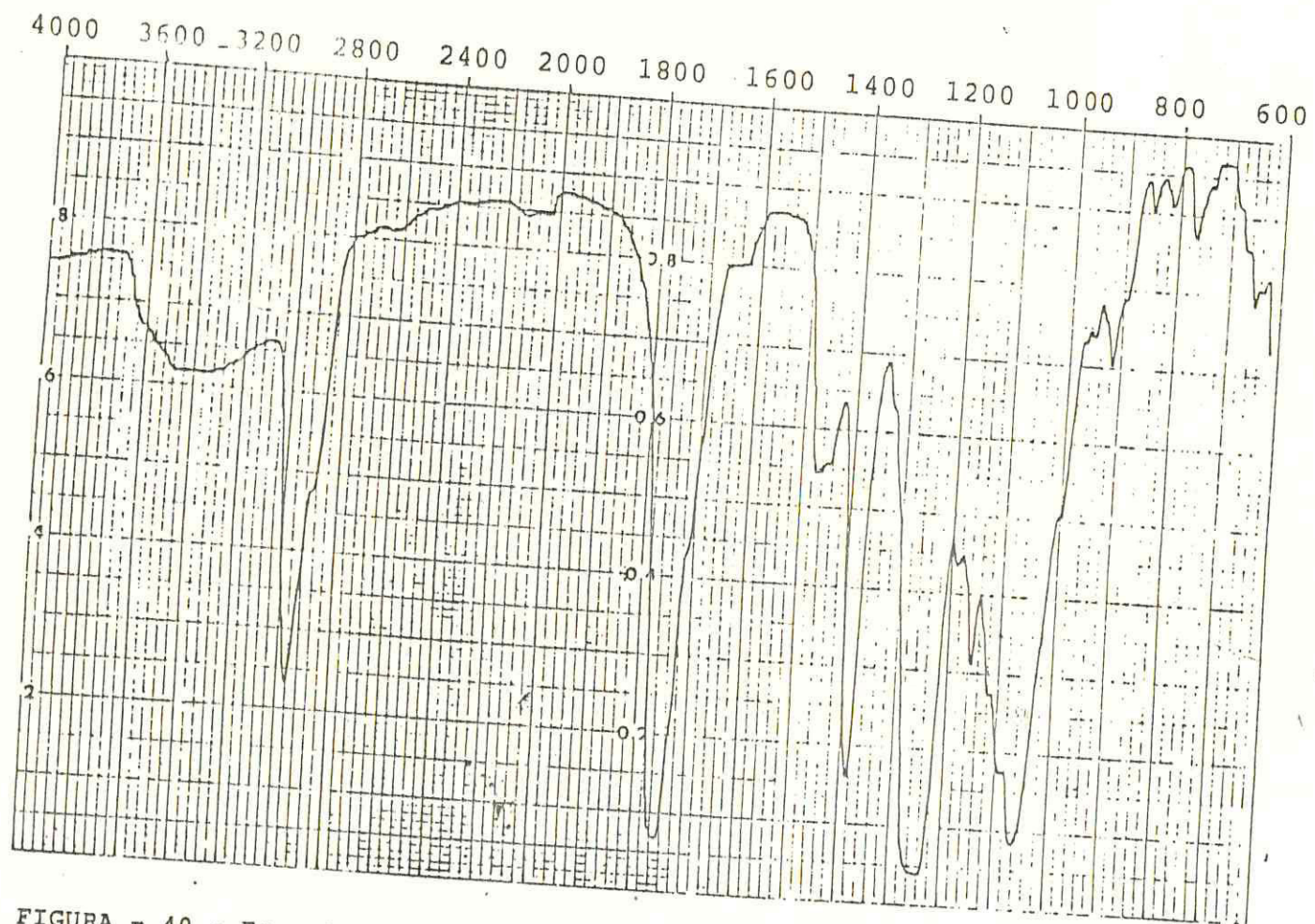
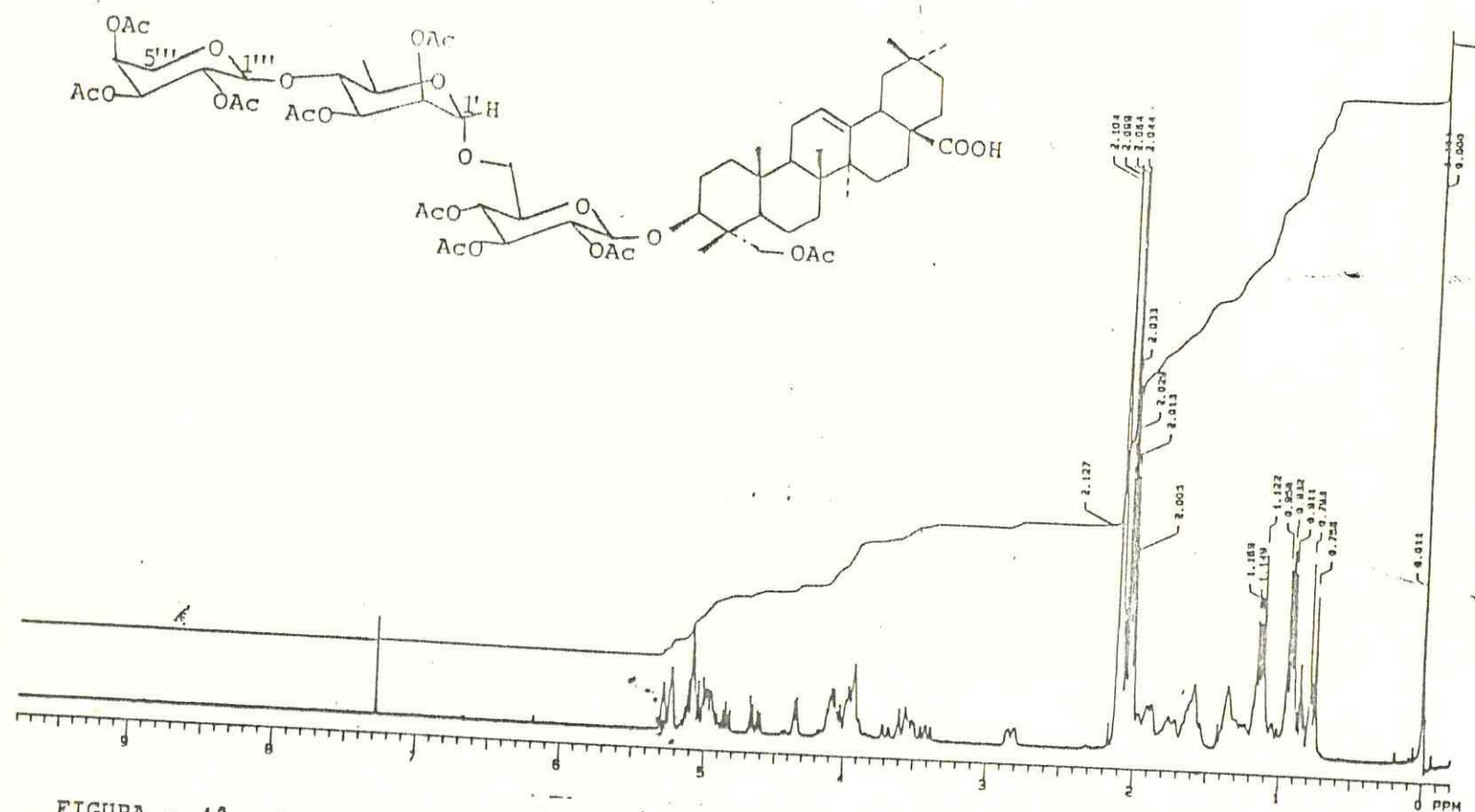


FIGURA - 40 - Espectro I.V. de Ss-3Ac
Fase: KBr



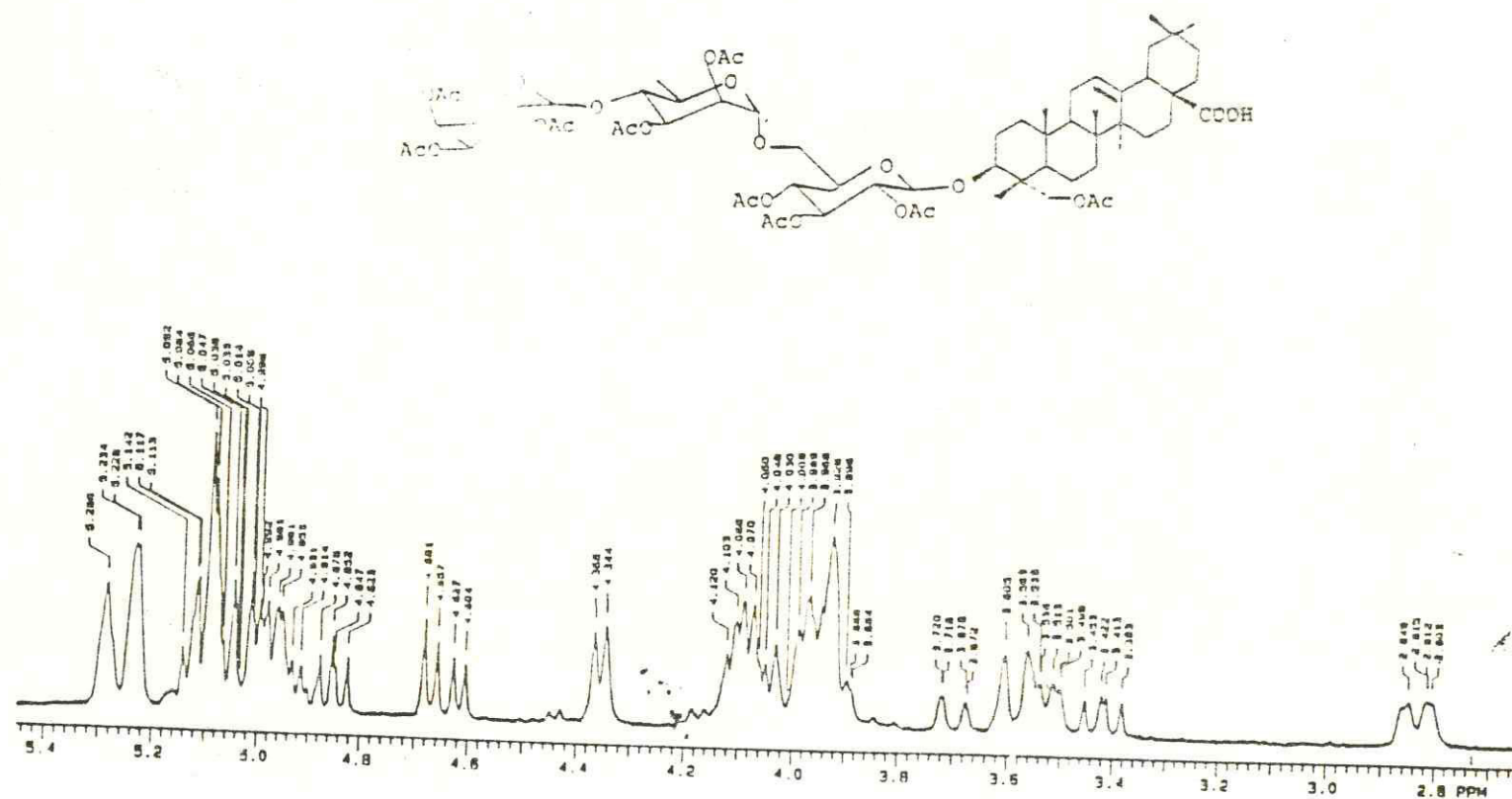


FIGURA - 41a - Expansão de RMN¹H de Ss-3Ac
(valor δ -CDCl₃, 300MHz)

triterpeno foram biogeneticamente modificados. A presença de nove sinais simples em 2,13, 2,10, 2,09, 2,06, 2,04, 2,03, 2,02, 2,01 e 2,00 δ atribuídos a grupos OCOCH_3 , incluindo o acetila do C-23, levou a crer que a porção osídica do glicosídeo é constituída de um trissacarídeo; um sinal largo em 5,23 δ foi atribuído ao próton anomérico de α -L-ramnose e as absorções a 4,67 δ (d, J = 7,2Hz) e 4,35 δ (d, J = 6,6Hz) foram correlacionadas aos prótons anoméricos de β -D-glicose e da α -L-arabinose respectivamente.

Outros dados importantes do RMN ^{13}C (Fig. 42) e do DEPTGL (Fig. 43) confirmam que Ss-3Ac trata-se de glicosídeo triterpenoidal da série oleano, cuja aglicona é a hederagenina (Tab. 7). O deslocamento químico para campo mais baixo das absorções relativas aos carbonos 2, 3 e 4 em relação aos mesmos carbonos das substâncias isoladas de *S. saponaria* (TAB. 7) demonstra que a hidroxila do carbono 3 está ligada à porção glicosídica como em Ss-2Ac. Embora Ss-3Ac tenha se apresentado em camada delgada como uma única mancha, mesmo em sistema de diferentes solventes, a duplicidade de sinais na região da absorção dos carbonos osídicos levou a supor que Ss-3Ac trata-se de uma mistura de dois glicosídeos de mesma aglicona.

A hidrólise ácida de Ss-3Ac com ácido trifluoroacético em ampola selada a 100°C seguida de análise cromatográfica comparativa em camada delgada permitiu

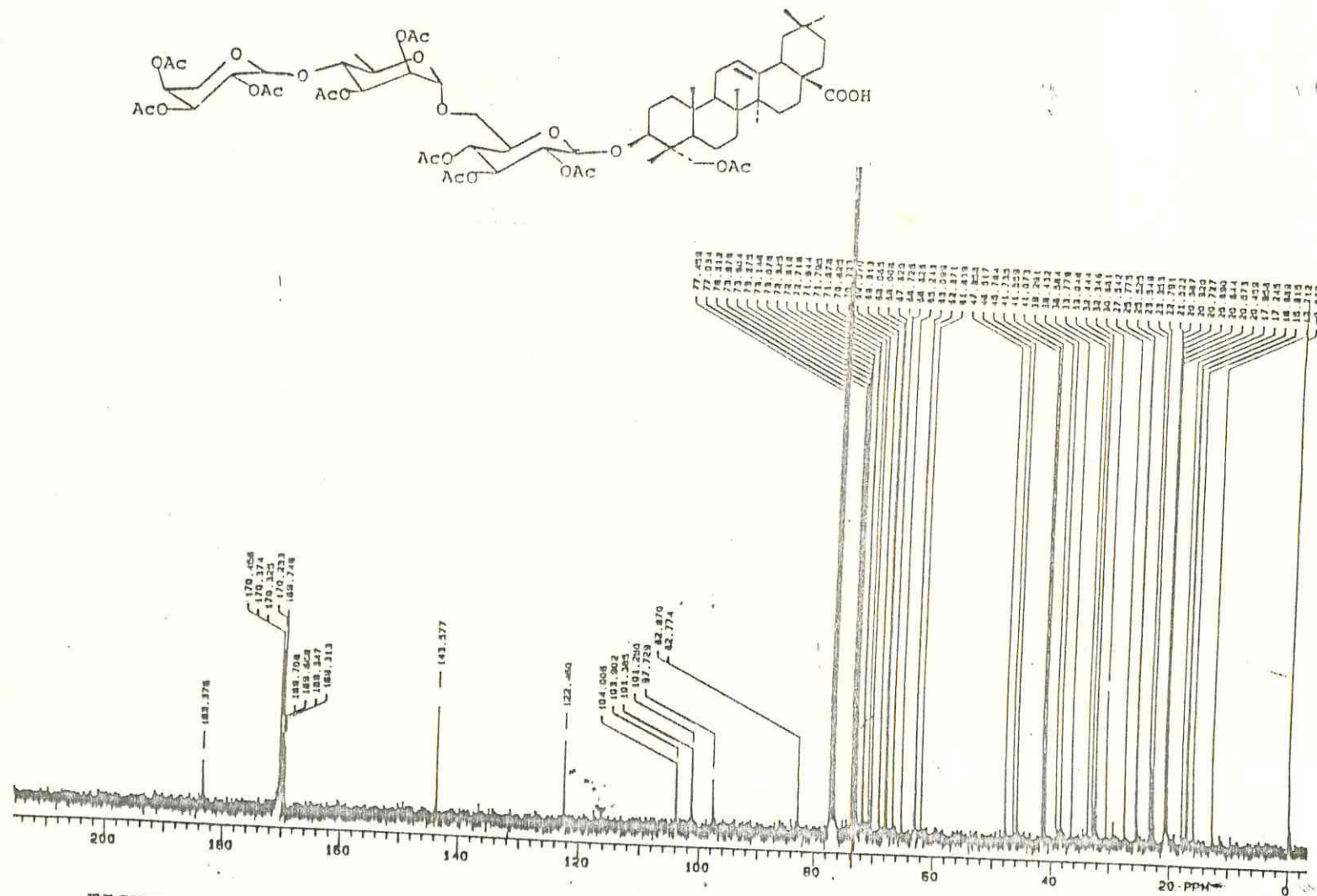
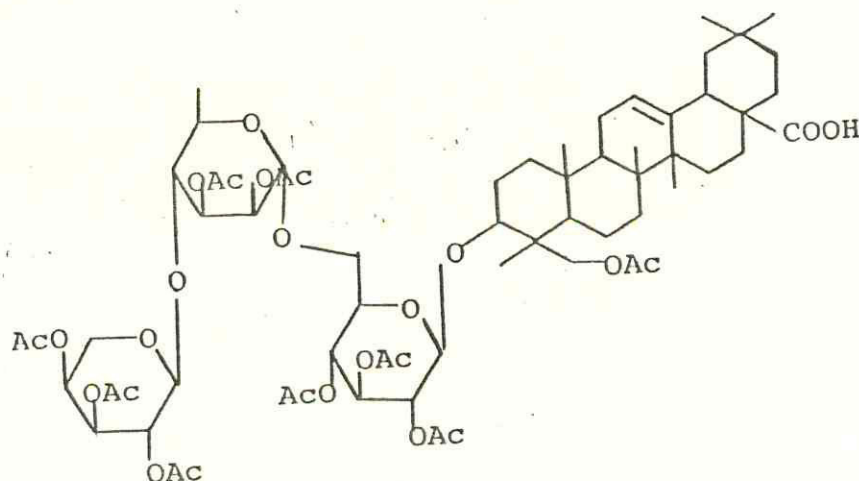


FIGURA - 42 - Espectro de RMN ¹³C de 5s-3Ac
(valor δ-CDCl₃, 75MHz)

distinguir principalmente glicose, arabinose e ramnose.

As absorções a 103,93, 101,29 e 97,726 foram atribuídas a carbonos anôméricos de β -D-glicose, α -L-arabinose e α -L-ramnose respectivamente. A comparação das absorções de RMN ^{13}C da porção osídica com modelos (Tab. 9) da literatura, e de posse dos dados discutidos foi possível sugerir para Ss-3Ac a estrutura do ácido 3β -O-[α -L-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosil]-23-ol--olean--12(13)-en-28-óico peracetilado.



Ácido 3β -O-[α -L-arabinopiranosil-(1 $\rightarrow$ 4)- α -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glicopiranosil]-23-ol-olean-12(13)-en-28-óico peracetilado

TABELA 9 - Dados do RMN¹³C da glicona de Ss-3Ac, Mod. 1 (glicose peracetilada)¹⁰⁶, Mod. 2 (ramnose peracetilada)¹⁰⁶ e Mod. 3 (arabinose)⁹⁸

C	Ss-3Ac glucose	Mod. 1
1'	103,93	91,70
2'	70,83	70,40
3'	72,96	72,25
4'	68,91	68,60
5'	73,88	74,00
6'	65,27	67,60
	ramnose	Mod. 2
1''	97,72	98,29
2''	70,83	69,65
3''	68,02	68,90
4''	82,90	71,09
5''	66,62	66,99
6''	17,25	17,35
	arabinose	Mod. 3
1'''	101,29	97,8
2'''	73,10	73,0
3'''	73,60	73,5
4'''	68,06	69,6
5'''	65,24	67,5

15 - EXPERIMENTAL: SAPINDUS SAPONARIA LINN

15.1 - Coleta de Material - - ,

O material botânico vegetal utilizado neste estudo foi coletado no município de Pentecoste (Ceará) por Manoel Andrade Neto, constando do pericarpo do fruto de *Sapindus saponaria* Linn cuja exsicata n^o 13.248 se encontra arquivada no herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará.

15.2 - Obtenção e processamento dos extratos

15.2.1 - Obtenção dos extratos hexânico e cloroformico

O pericarpo (1.500g) previamente seco e pulverizado foi extraído com hexano a frio (2,0l), e em seguida com cloroformio. O extrato hexânico obtido foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida produzindo 2,0g de um material de coloração amarelo escura, que em virtude de sua pouca quantidade não foi processado. O resíduo foi extraído com cloroformio seguindo as técnicas usadas para a extração com hexano resultando em pequena quantidade de extrato que não foi cromatografado.

15.2.2 - Obtenção do extrato cloroformio:metanol

O material vegetal foi novamente extraído com cloroformio:metanol (1:1), concentrado sob pressão reduzida, produzindo um material xaroposo (143,0g) também de coloração amarelo escura. Este material xaroposo foi submetido a uma

filtração usando como suporte sílica gel e como fase móvel quatro eluentes na seguinte ordem: hexano, cloroformio, acetato de etila(A) e metanol(B). As frações resultantes da extração com hexano e cloroformio não foram trabalhadas em virtude de apresentarem pouco material.

15.3 - Recromatografia das frações obtidas da coluna filtrante

A - Fração obtida com acetato de etila

A fração obtida com acetato de etila (8,9g) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel obtendo-se várias frações, todas impuras cuja cromatografia em camada delgada usando como eluente hexano:acetona (1:1) e revelador sulfato cérico, revelou presença de várias substâncias com Rf muito próximos tornando-se impraticável o isolamento de qualquer dos constituintes. A fração foi então acetilada (3,18g), adicionando-se para isto 15ml da mistura piridina:anidrido acético (1:10) e deixando-se em repouso por um período de 24 horas. A mistura reacional foi processada da maneira usual e submetida a cromatografia em coluna de sílica gel usando como fase móvel hexano:acetona em diferentes polaridades obtendo-se 28mg de uma substância que apresentou-se pura em cromatografia em camada delgada e foi designada por Ss-2Ac e mais 2,7g de uma outra substância parcialmente pura que foi cognominada de Ss-3Ac.

A.1 - Purificação de Ss-3Ac

Ss-3Ac (1,0g) foi submetido a coluna cromatográfica de sílica gel, usando-se como eluente misturas sucessivas de hexano:acetona de crescente polaridade tendo sido coletadas 15 frações de 50ml cada. As frações 12 e 13 eluídas respectivamente com misturas de hexano:acetona 24 e 26%, cromatografadas em camada delgada, apresentaram-se como um composto puro com Rf 0,79 correspondendo a Ss-3Ac, com ponto de fusão 139,6 - 142,2°C.

B - Fração metanólica

O extrato metanólico foi submetido a cromatografia em camada delgada usando-se como eluente, acetona, a qual revelou a presença de uma mistura de substâncias superpostas. A mistura, (4,2g), foi então acetilada segundo a metodologia descrita para o extrato obtido com acetato de etila. Após tratamento usual o material resultante pesou 5,0g.

B.1 - Processamento da fração metanólica acetilada

Parte da fração metanólica acetilada (3,0g) foi submetida a coluna cromatográfica de sílica gel usando-se como eluente hexano:acetona em proporções variáveis. Foram coletadas 16 frações de 50ml cada. Após exame em camada delgada usando-se como eluente hexano:acetona 40%, as frações 7-9 eluídas em hexano:acetona 2%, apresentaram-se puras e idênticas a Ss-3Ac.

15.4 - Hidrólise ácida da fração metanólica

Ao extrato metanólico seco (4,0g), foram adicionados 150ml de solução aquosa de ácido sulfúrico 10%. Inicialmente a mistura foi dissolvida a quente e refluxada por 4 horas. Após o refluxo foi realizada filtração e lavagem do precipitado a vácuo. O precipitado resultante foi submetido a cromatografia de sílica gel, usando-se como eluente hexano:acetona. Analisada em camada delgada usando-se como eluente hexano:acetona 20%, foram reunidas as frações de 23-38 que apresentaram principalmente uma substância que foi designada por Ss-5. Do mesmo modo as frações de 39-41 foram reunidas e denominadas de Ss-6 (199mg) que foi posteriormente metilada e acetilada.

15.5 - Purificação de Ss-5

Na cromatografia em coluna de sílica gel de Ss-5 utilizou-se como eluente hexano-acetona 5% e colheu-se 9 frações de 50ml cada. Após cromatografia em camada delgada usando-se como eluente hexano-acetona 20%, verificou-se que Ss-5 estava em maior quantidade nas frações 1-6 (363mg) com R_f 0,50.

15.6 - Metilação e acetilação de Ss-5

A fração contendo Ss-5 (150mg) adicionou-se 30ml de solução etérea de diazometano e deixou-se por 24 horas. O produto foi levado à secura e acetilado com 10ml da mistura piridina:anidrido acético (1:10). O produto foi purificado em

cromatografia de sílica gel usando-se como eluente hexano:acetona 2%, colhendo-se 5 frações de 50ml cada. Após comparação das frações em cromatografia em camada delgada usando-se como eluente hexano:acetona 15% e revelador solução ácida de sulfato cérico, verificou-se que a maior parte do material estava contido nas frações 2 e 3, e por cromatografia comparativa em camada delgada verificou-se que não houve acetilação. A referida fração apresentou Rf 0,61 e recebeu a denominação de Ss-5Me.

15.7 - Metilação e acetilação de Ss-6

Ss-6 (197mg) foi metilado e acetilado da maneira usual. Na tentativa de purificação de Ss-6MeAc fez-se coluna cromatográfica em sílica gel, usando-se como eluente hexano aumentando-se gradativamente a polaridade pela adição de acetona, colhendo-se 20 frações de 50ml cada. A análise destas frações em camada delgada usando-se como eluente hexano:acetona 15% levou a associação das frações 7-15 as quais foram submetidas a nova cromatografia sob pressão, usando-se como eluente, hexano, obtendo-se 8 frações. Ss-6MeAc apareceu nas frações 3-7 dando um total de 167mg.

15.8 - Hidrólise ácida para identificação das oses em Ss-2Ac e Ss-3Ac

A hidrólise de Ss-2Ac (4mg) e Ss-3Ac (4mg) com ácido trifluoroacético 4N foi realizada em ampola selada deixando

durante 4 horas em estufa a 100°C . Após a hidrólise o material foi elaborado como descrito no item 9.7 e então submetido a cromatografia em camada delgada e cromatografia em papel.

15.8.1 - Identificação das oses obtidas da hidrólise de Ss-2Ac e Ss-3Ac

Cromatografia em camada delgada do material resultante da hidrólise de Ss-2Ac com ácido trifluoroacético foi realizada usando-se o mesmo eluente e revelador descritos em 9.7.1. O processo revelou a presença apenas de dois tipos de oses que foram recromatografadas com o auxílio de padrões nas mesmas condições levando a identificação das oses como sendo glicose e ramnose com R_f de 0,11 e 0,64 respectivamente.

Na identificação das oses de Ss-3Ac foi repetido todo o processo descrito acima e o mesmo levou a identificação de tres tipos de oses como sendo glicose, arabinose e ramnose com R_f de 0,11, 0,23 e 0,64 respectivamente.

15.8.2 - Cromatografia em papel das oses obtidas de Ss-2Ac e Ss-3Ac

Na cromatografia em papel das oses obtidas de Ss-2Ac e Ss-3Ac foi repetido todo o processo descrito em 9.7.2, havendo confirmação de glicose e ramnose em Ss-2Ac e glicose, arabinose e ramnose em Ss-3Ac.

16 - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE SAPINDUS SAPONARIA LINN E SEUS DERIVADOS

16.1 - 5s-6MeAc

Sólido, branco, pf. 173,5-175,8^o Ce Rf 0,74 usando-se como eluente hexano:acetona 15% e revelador sulfato cérico

Espectro IV. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

2970(F), 1725(F), 1375(m), 1255(F), 1040(m), 765(F).

Fig. 17, pag. 81

Espectro de massas, m/z (%)

262(17,51), 203(58,26), 133(34,81), 105(43,13),
93(30,87), 83(68,47), 81(90,95), 79(54,86),
69(52,87), 67(63,59), 61(44,50), 59(40,15),
57(73,08), 53(45,96), 55(100).

Quadro 4, pag. 86; fig. 4a, pag. 85

Espectro de RMN ¹H (δ - CDCl₃, 300MHz)

5,25(t, J=3,6Hz, H-12), 4,75(dd, J=11,1 e 5,1Hz, H-3 axial), 3,83 (d, J=11,4Hz, H-23), 3,66(d, J=11,4Hz, H-23), 3,58(s, OCH₃), 2,83(dd, J=13,6 e 4,5Hz, H-18 axial), 2,03(s, OAc), 1,98(s, OAc), 1,08(s, CH₃-27), 0,93(s, CH₃-25), 0,89(s, CH₃-30), 0,86(s, CH₃-29), 0,80(s, CH₃-24), 0,69(s, CH₃-26).

Fig. 18, pag. 82

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

178,18(COMe), 170,89(OCOMe), 170,60(OCOMe),
 143,80(C-13), 122,15(C-12), 74,49(C-23), 65,41(C-23),
 51,48(OCH₃), 47,85(C-5), 47,68(C-9), 46,67(C-17),
 45,79(C-19), 41,55(C-14), 41,28(C-18), 40,50(C-4),
 39,25(C-*) , 37,72(C-1), 36,74(C-10), 33,83(C-21),
 33,07(C-29), 32,33(C-7), 32,28(C-22), 30,65(C-20),
 27,61(C-15), 25,76(C-27), 23,61(C-30), 23,37(C-16),
 23,00(C-2), 22,93(C-11), 21,18(OCOMe), 20,88(OCOMe),
 17,93(C-6), 16,81(C-26), 15,77(C-25), 13,07(C-24).

Fig. 19, pag. 88

16.2 - Ss-5

Sólido branco, pf. 270,7-273,1°C e RF 0,50 usando-se
 como eluente hexano:acetona 5% e revelador sulfato
 cérico

Espectro IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

3440-35460(F), 2950(F), 1700(m), 1625(m), 1470(f),
 1395(m), 1125-1180(m), 1130(m), 880(m).

Fig. 24, pag. 96

Espectro de massas, (%)

249(17), 248(57), 203(100), 202(23), 201(12),
 187(21).

Quadro 5, pag-103; fig. 5a, pag. 102

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,24(m, H-12), 3,49(d, $J=10,8\text{Hz}$, H-23 equatorial),
3,41(d, $J=10,8\text{Hz}$, H-23 axial), 3,48(dd, $J=10,8$ e
3,9Hz, H-3 axial), 2,79(dd, $J=13,4$ e 3,9Hz, H-18
axial), 1,42(s, $\text{CH}_3\text{-3'}$), 1,38(s, $\text{CH}_3\text{-2'}$), 1,11(s,
 $\text{CH}_3\text{-27}$), 1,00(s, $\text{CH}_3\text{-24}$), 0,92(s, $\text{CH}_3\text{-25}$),
0,89(s, $\text{CH}_3\text{-30}$), 0,87(s, $\text{CH}_3\text{-29}$), 0,69(s, $\text{CH}_3\text{-26}$).
Sobrou: 2,14 (atribuída ao solvente).

Fig. 26, pag. 99

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

194,18(C-28), 143,54(C-13), 122,41(C-12),
98,98(C-1'), 77,59(C-3), 72,57(C-23), 51,51(C-5),
47,65(C-9), 46,46(C-17), 45,85(C-19), 41,53(C-14),
40,88(C-18), 39,43(C-8), 38,76(C-1), 37,25(C-4),
36,76(C-10), 33,77(C-21), 33,07(C-29), 32,41(C-7),
32,12(C-22), 30,66(C-20), 29,82(C-3'), 27,65(C-15),
25,99(C-27), 23,58(C-30), 23,43(C-2), 23,21(C-16),
22,80(C-11), 19,37(C-2'), 17,62(C-6), 17,05(C-26),
16,49(C-25), 12,40(C-24).

Fig. 28, pag. 106

16.3 - 5s-5Me

Sólido branco, p.f. 244,7-247,1 $^{\circ}\text{C}$ e Rf. 0,61 usando-se
como eluente hexano:acetona 15% e revelador sulfato
cérico.

Espectro IV. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1}

2950(F), 1740(F), 1470(m), 1405(m), 1380(m) 1240(m),

1210(m), 1055(m), 885(F).

Fig. 25, pag. 98

Espectro de massas, m/z (%)

262(13,79), 203(52,68), 189(21,96), 133(39,41),
119(44,04), 83(100), 81(95,67), 69(86,92)

Quadro 6, pag. 105; fig. 6a, pag. 104

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,26(t, H-12), 3,59(s, OCH_3), 3,50(d, $J=10,8\text{Hz}$,
H-23 equatorial), 3,41(d, $J=10,8$, H-23 axial),
3,47(dd, $J=10,8$ e $3,9\text{Hz}$, H-3 axial), 2,84(dd, $J=10,8$
e $3,9\text{Hz}$, H-18 axial), 1,42(s, CH_3-3'), 1,39(s,
 CH_3-2'), 1,12(s, CH_3-27), 1,03(s, CH_3-24), 0,93(s,
 CH_3-25), 0,90(s, CH_3-30), 0,88(s, CH_3-29) 0,69(s,
 CH_3-26)

Fig. 27, pag. 100

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

178,15(C-28), 143,74(C-13), 122,20(C-12),
98,87(C-1'), 77,59(C-3), 72,63(C-23), 51,56(C-5),
51,47($\text{O}-\text{CH}_3$), 47,69(C-9), 46,67(C-17), 45,91(C-19),
41,65(C-14), 41,29(C-18), 39,46(C-8), 38,84(C-1),
37,22(C-4), 36,77(C-10), 33,86(C-21), 33,09(C-29),
32,35(C-22), 32,21(C-7), 30,67(C-20), 29,87(C-3'),
27,69(C-15), 25,98(C-27), 23,63(C-30), 23,49(C-16),
23,24(C-11), 23,04(C-2), 19,36(C-2'), 17,67(C-6),

16,75(C-26), 16,46(C-25), 12,44(C-24).

Fig. 29, pag. 107

16.4 - Ss-2Ac

Sólido branco, Rf 0,82 usando-se como eluente hexano:acetona 30% e revelador sulfato cérico

Espectro IV. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

3400(F), 2970(m), 1745(F), 1640(F), 1380(m), 1225(F), 1060(F).

Fig. 36, pag. 115

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,3-5,2(m, 3H), 5,21(t, H-12), 5,08(t, J=9,5Hz), 5,03(s1, H-1''), 4,96(dd, J=9,0 e 3,2Hz), 4,43(d, J=6,4Hz, H-1'), 4,14(d, J=10,8Hz), 4,20-4,05(m, 1H), 3,84(d, J=11,9Hz, H-23), 4,0-3,8(m, 2H), 3,58(d, J=11,9Hz, H-23), 3,55(dd, J=10,8 e 5,0Hz, H-3 axial), 2,82(dd, J=13,5 e 3,8Hz, H-18 axial), 2,13(OCOCH₃), 2,09(OCOCH₃), 2,08(OCOCH₃), 2,07(OCOCH₃), 2,05(OCOCH₃), 2,03(OCOCH₃), 1,96(OCOCH₃), 1,21(d, J=6,0Hz, CH₃-ramnose), 1,10(s, CH₃), 0,94(s, CH₃), 0,92(s, CH₃), 0,90(s, CH₃), 0,79(s, CH₃), 0,74(s, CH₃).

Fig. 37, pag. 116

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

183,18(C-28), 170,40(OCOCH_3), 170,36(OCOCH_3),
 170,29(OCOCH_3), 170,13(OCOCH_3), 170,13(OCOCH_3),
 170,04(OCOCH_3), 169,64(OCOCH_3), 143,60(C-13),
 122,48(C-12), 103,52(C-1'), 98,24(C-1''), 81,95(C-3),
 74,44(C-3'), 71,83(C-5'), 71,02(C-4''), 69,55(C-2''),
 68,61(C-4'), 67,81(C-4'), 67,16(C-2' e C-5''),
 65,08(C-23), 62,65(C-6'), 47,84(C-9 e C-5),
 46,52(C-17), 45,79(C-19), 41,92(C-4), 41,56(C-14),
 41,07(C-18), 39,27(C-8), 38,34(C-1), 36,56(C-10),
 33,78(C-21), 33,06(C-29), 32,42(C-7), 32,36(C-22),
 30,67(C-20), 27,54(C-15), 25,75(C-27), 25,50(C-2),
 23,56(C-30), 23,39(C-16), 22,84(C-11), 21,01(OCOCH_3),
 20,96(OCOCH_3), 20,92(OCOCH_3), 20,80(OCOCH_3),
 20,76(OCOCH_3), 20,70(COCH_3), 20,64(OCOCH_3),
 17,98(C-6), 17,34(C-6''), 16,94(C-26), 15,82(C-25),
 12,62(C-24).

Fig. 38, pag. 118.

16.5 - Ss-3Ac

Sólido branco, pf. 139,6-142,2°C e Rf 0,79 usando-se como eluente hexano:acetona 24% e revelador sulfato cérico.

Espectro IV. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{ cm}^{-1}$

3500-3300(m), 2960(F), 1740(F), 1375(F), 1235(F),

1059(F).

Fig. 40 pag. 124

Espectro de RMN ^1H (δ - CDCl_3 , 300MHz)

5,29(s1, H-12), 5,23(s1, H-1''), 5,15-4,9(m),
 4,85(dd, J=8,7 e 7,2Hz), 4,67(d, J=7,2Hz, H-1'),
 4,61(d, J=6,9Hz), 4,35(d, J=6,6Hz, H-1'''),
 4,20-3,88(m), 3,94(d, J=12,6Hz, H-23), 3,70
 (d, J=13,2Hz), 3,58(d, J=12,6Hz, H-23), 3,53
 (dd, J=11,8 e 4,2Hz, H-3 axial), 3,42(dd, J=11,8
 e 9,3Hz), 2,83(dd, J=13,8 e 3,6Hz, H-18 axial),
 2,10(s, OAc), 2,09(s, OAc), 2,06(s, OAc), 2,04(s,
 OAc), 2,03(s, OAc), 2,01(s, OAc), 2,00(s, OAc),
 1,16(d, J=6,0Hz, Me-ramnose), 1,12(s, CH₃), 0,96(s,
 CH₃), 0,93(s, CH₃), 0,91(s, CH₃), 0,79(s, CH₃),
 0,76(s, CH₃).

Fig. 41, pag. 125

Espectro de RMN ^{13}C (δ - CDCl_3 , 75MHz)

183,88(COOH), 170,45(OCOCH₃), 170,37(OCOCH₃),
 170,32(OCOCH₃), 170,23(OCOCH₃), 169,75(OCOCH₃),
 169,71(OCOCH₃), 169,67(OCOCH₃), 169,34(OCOCH₃),
 169,31(OCOCH₃), 143,58(C-13), 122,46(C-12),
 103,93(C-1'), 101,29(C-1'''), 97,72(C-1''),
 82,87(C-4''), 82,77(C-3), 73,88(C-5'), 73,60(C-3'''),

73,10(C-4'), 72,96(C-3'), 70,83(C-2'),
 69,07(C-2'), 68,91(C-4'), 68,06(C-2'),
 68,00(C-3'), 66,72(C-6'), 66,62(C-5'),
 65,24(C-5' e C-23), 47,86(C-5 e C-9), 46,52(C-17),
 45,78(C-19), 41,73(C-4), 41,56(C-14), 41,07(C-18),
 39,29(C-28), 38,43(C-1), 36,58(C-10), 33,78(C-21),
 33,05(C-29), 32,44(C-7), 32,35(C-22), 30,66(C-20),
 27,54(C-15), 25,77(C-27), 25,52(C-2), 23,56(C-30),
 23,35(C-16), 22,79(C-11), 21,02(OCOCH₃),
 20,98(OCOCH₃), 20,92(OCOCH₃), 20,73(OCOCH₃),
 20,69(OCOCH₃), 20,64(OCOCH₃), 20,57(OCOCH₃),
 20,46(OCOCH₃), 17,96(C-6'), 17,24(C-6'),
 16,89(C-26), 15,91(C-25), 12,71(C-24).

Sopbraram: 73,27, 73,15, 72,81, 72,72, 71,94, 71,75,
 71,67, 70,22, 67,62, 63,10, 62,87, 61,94.

Fig. 42, pag. 128

17 - MATERIAIS E MÉTODOS

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital da METTLER, modelo PF-5.

Os espectros na região do infravermelho (IV.) foram obtidos em espectrômetro Perkin-Elmer-720, equipado com retícula, utilizando-se técnicas de incorporação da amostra em disco de KBr e película em cloroformio em suporte de cloreto de sódio. As seguintes convenções foram adotadas: F (absorção forte), m (absorção média) e f (absorção fraca).

Os espectros de massa foram registrados em espectrômetro de massa, marca FINNIGAN 3300.

Os espectros de ressonância magnética protônica (RMN ^1H) foram determinados em aparelho Varian VXR 300 (300 MHz) Universidade do Mississippi-USA. Os deslocamentos químicos são dados em δ e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). A referência interna utilizada foi o tetrametilsilano (TMS) e o solvente foi CDCl_3 . As seguintes convenções foram adotadas: s (singleto), l (sinal largo), m (multiplete), d (dubleto) e t (tripleto).

Os espectros de ressonância magnética de carbono (RMN

^{13}C) incluindo HETCOR, COSY, APT, DEPTGL foram registrados em espectrômetro Varian VXR 300 (75MHz) pertencente a Universidade do Mississippi, Escola de Farmácia USA sob a supervisão do Dr. Charles P. Hufford. Os deslocamentos químicos são dados em δ e a referência interna utilizada foi o tetrametilsilano. Como solvente foi usado CDCl_3 .

Para a separação por cromatografia de adsorção em coluna, usou-se gel de sílica (E. Merck, Darmstadt) de 0,05-0,20mm de granulação.

Cromatografia em camada delgada (CCD) foi de modo geral executada em sílica gel G (Merck) e cromatofolhas Al silicagel 60 F254 de 0,20mm de espessura. Para cromatografia em papel foi utilizado papel Whatman.

Cromatografia em fase gasosa dos acetatos de alditóis foi efetuada em cromatógrafo Hp Hewlett Packard (5995A GAS CHROMATOGRAPH/MASS SPECTROMETER). Usou-se coluna capilar de metil-silicone (30m x 0,4mm de diâmetro) a temperatura de 50 a 300°C e nitrogênio como gás carreador.

A visualização das manchas nas placas foi realizada mediante borrifamento com solução de sulfato cérico $[\text{Ce}(\text{SO}_4)_2]$ a 2%, em ácido sulfúrico 2N, seguido de aquecimento em estufa.

Para as oses foi utilizado solução de orcinol a 0,2% em ácido sulfúrico 3,6M. Para a observação em papel foi utilizado solução de oxalato de anilina a 2% em acetona:água.

A concentração dos vários extratos das frações eluídas de colunas cromatográficas e das soluções dos produtos de reações, foi feita em evaporador rotatório Buchi, sob pressão reduzida em banho de água, em temperatura sempre inferior a 80°C.

18 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SILVEIRA, E. R. *Biological Evaluation and Chemical Constitution of "Marmeleiro Preto" (Croton sonderianus Muell A R G)*. USA, 1985. p. i. (Tese de doutorado).
2. POLHILL, R. M. and RAVEN, P. H. *Advances in Legumes Systematics*. England, Edited by R. M. Polhill P. H. Raven, p. 635-9, 1978.
3. JOLY, AYLTON BRANDAO. *Introdução à Taxonomia Vegetal*. São Paulo-SP, Companhia Editora Nacional, p. 376-7, 1977.
4. VARSHNEY, I. P. & SHAMSUDDIN, K. M. *J. Scien ind. Res.*, 21B: 347, 1962.
5. TSCHESCHE, R. & FORTSMANN, D., *BER. Ber. dt. Chem. Ges.*, 94: 2382, 1979.
6. VARSHNEY, I. P. *Indian J. Chem.*, 7: 446-9, 1969.
7. BARUA, A. K. & RAMAN, S. P. *Tetrahedron*. 7: 19, 1959;
8. HASAN, H., VARSHNEY, I. P. & ABMED, S. A. *Indian J. Pharm.*,

- 23: 331, 1961.
9. VARSHNEY, I. P. & KHAN, M. S. Y. *Can. J. Chem.*, 39: 1721, 1961.
10. VARSHNEY, I. P. & KHAN, M. S. Y. *J. Scient. ind. Res.*, 21B: 30, 1962.
11. VARSHNEY, I. P. & KHAN, M. S. Y. *J. Pharm. Sci.*, 53: 1532, 1964.
12. VARSHNEY, I. P. *Proc. natn. Acad. India*, 35A: 420, 1965.
13. FAROOQ, M. O., VARSHNEY, I. P. & NAIN, Z. *Arch. Pharm. Derl.*, 295: 12, 1962.
14. VARSHNEY, I. P. & SHAMSUDDIN, K. M. *Tetrahedron Letters*, (30): 2055, 1964.
15. FAROOQ, M. O., VARSHNEY, I. P. & NAIN, Z. *Ann. Pharm. Fr.*, 17: 442-7, 1959.
16. JOSHI, K. C., THOLIA, M. K. & SHARMA, T. *Planta Medica*, 27: 281-3, 1975.
17. DUNSTAN, W. J. *Aust. J. Chem.*, 26: 831-7, 1973.

18. EADE, R. A., McDONALD, F. J. & SIMES, J. J. H. *Aust. J. Chem.*, **26**: 839-44, 1973.
19. JOSHI, K. C., THOLIA, H. K. & SHARMA, H. *Indian J. Chem.*, **13**: 638-9, 1975.
20. GUPTA, N. C., SINGH, B. & BHAKUNI, D. S. *Phytochemistry*, **8**: 791-2, 1969.
21. RAO, H. G., ROW, L. R. & RUKMINI, C. *Indian J. Chem.*, **7**: 1203-5, 1969.
22. BANNON, C. D., EADA, R. A., JAMES, P., MCKENZIE, G. P. & SIMES, J. J. H. *Aust. J. Chem.*, **26**: 629-39, 1973.
23. KARRER, W. 'Konstitution und Vorkommen der Organischen Pflanzenstoffe'. Birkhauser-Verlag, Basel, 1958.
24. STOLL, A. and JUCKER, E. Phytisterins steroidsaponins, and herzykaside. In 'Moderne Methoden der Pflanzenanalyse' (K. Paech and M. V. Tracey, eds). Berlin, Springer Verlag, 1954.
25. SINGH, B. & RASTOGI, R. P. *Phytochemistry*, **9**: 315-31, 1970.
26. RIZVI, S. A. I., LAL, J. & GUPTA, P. C. *Phytochemistry*,

10: 670, 1971

27. BRAGA, A. DA SILVA ARNAT, V. H., ALVES, H. H., GOTTLIEB, O. R., MAGALHÃES, M. T. & OLLIS, W. D. *An. da Acad. Brasileira de Ciências*, 39: 249-51, 1967.
28. EYTON, W. B., OLLIS, W. D., SUTHERLAND, I. O., GOTTLIB, O. R., MAGALHÃES, M. T. & JACKMAN, L. M. *Tetrahedron*, 21: 2683-96, 1965.
29. JOSHI, K. C., BANSAL, R. K., SINGH, P. & SING, G. *Indian J. Chem.*, 13: 669-70, 1975.
30. SENGPTA, P., DES, P. B. & SAHA, S. K. *J. Indian Chem. Soc.*, 48: 95-6, 1971.
31. CHAKAWARTI, D., ROY, J. K. & BARUA, A. K. *Science and Culture*, 20: 199-200, 1954.
32. BASU, N. & RASTOGI, R. P. *Phytochemistry*, 6: 1249-70, 1967.
33. SINGH, H., CHAWLA, A. S., ROWE, S. W. & TODA, J. K. *Phytochemistry*, 9: 1673-75, 1970.
34. BHAKUNI, D. S. & KHANNA, N. B. *J. Sci. Ind. Res.*, 18B: 494-5, 1959.

35. KIR YALOW, W. P., MURAV 'EV, I. A., STEPENOVA, E. P. & BOGATKINA, V. P. *Chemistry of Natural Compounds*, 6: 787, 1973.
36. BIRK, Y. (1969). *Saponins In 'Toxic Constituents of Plant Foodstuffs'*. (I. E. Liner, ed.), New York and London, Academic Press, p. 169-211, 1969.
37. ALI-ZADE, T. A., KONDRATENKO, E. S. & ABUBAKIROV, N. K. *Chem. Nat. Comp.*, 6: 500, 1973.
38. BADALBAEVA, T. A., KONDRATENKO, E. S., MZHEL'SKAYA, L. G. *Scadin* (Tashk), 8: 744-7, 1973.
39. WALTER, E. D. *J. Pharm. Sci.*, 50: 173, 1961.
40. BLAIN, H. & PRZESZLAKOWSKA, H. *Roczniki Nauk Rolniczych*, 95: 75-81, 1969.
41. BARTON, D. H. R. & BROOKS, C. J. W. *J. Chem. Soc.*, p. 257. 1951.
42. LAIDLAW, R. A. *J. Chem. Soc.*, p. 752-7, 1954.
43. ALVES, H. M., ARNDT, V. H., OLLIS, W. D., EYTON, W. B., GOTTlieb, O. R. & MAGALHÃES, M. T. *Phytochemistry*.

- 5: 1327-30, 1966
44. EYTON, W. B., W. B., OLLIS, W. D., FINEBERG, M. GOTTLIEB, D. R., GUIMARÃES, I. S. S. & MAGALHÃES, T. M. *Tetrahedron*, 21: 2697-705, 1965.
45. BARNES, R. F. & GUSTINE, D. L. *Crop.Sci. Soc. of Amer. (CSSA)*, Special Public., 1-13, 1973.
46. KING, F. E., COTTERILL, C. B., GODSON, D. H., JUND, L. & KING, T. J. *J. Chem. Soc.*, II: 3693-7, 1953.
47. KUMAR, N. & SESHADRI, T. R. *Phytochemistry*, 14:521-3, 1975.
48. KUMAR, N. & SESHADRI, I. T. *Phytochemistry*, 15: 1417-8, 1976
49. HASHIMOTO, Y., ISHIZONE, H. & OGURA, M. *Phytochemistry*, 19: 2411-5, 1980.
50. HASHIMOTO, Y., OHTA, Y., ISHIZONE, H., KURIYAMA, M. & OGURA, M. *Phytochemistry*, 21: 2335-7, 1982.
51. HASHIMOTO, Y., ISHIZONE, H., SUGANUMA, M., OGURA, M., NAKATSU, K. & YOSHIOKA, H. *Phytochemistry*, 22:259-64, 1983.
52. HASHIMOTO, Y., ISHIZONE, H., MORIYASU, M., KAWANISHI, K.,

- KATO, A. & OGURA, H. *Phytochemistry*, 23: 1807-8, 1984.
53. HASHIMOTO, Y., ISHIZONE, H., HORIYASU, H., KAWANISHI, K., KATO, A. & OGURA, H. *Phytochemistry*, 23: 493-4, 1984.
35A: 418, 1965.
54. VARSHNEY, I. P. & SHAMSUDDIN, K. M. *Proc. Natn. Sci. India*,
35A: 418, 1965
55. HARBONE, J. B. *Terpenoid and other low molecular weight substance of systematic interest in the Leguminosae. In Chemotaxonomy of the Leguminosae*, (J. B. Harbone, D. Boulter and B. L. Turner, eds), New York, Academic Press, p. 257-83, 1971.
56. VARSHNEY, I. P. & VYAS, P. *Indian J. Chem.* 14B: 814-5, 1976..
57. VARSHNEY, I. P. & VYAS, P. *J. Indian Chem. Soc.*,
54(10): 992-4, 1977.
58. VARSHNEY, I. P. & KHANNA, NEESA. *J. Pharm. Sci.*,
40(2): 60-1, 1978.

59. VARSHNEY, I. P., JAIN, D. C., BEG, M. F. A. & SRIVASTAVA, H. C. *Fitoterapia*, 56(5): 281-3, 1985.
60. SHANDRAW, R. F. & LYNN, E. V. *J. Am. Pharm.*, 44: 38-9, 1955.
61. CHIRVA, V. YA., KINTYA, P. K. & KRETSU, L. G. *Chemistry of Natural Compounds*, 6: 579-81, 1970.
62. LAZUR'EVSKII, G. V., CHIRVA, V. YA., KINTIA, P. K. & KRETSU, L. G. *Dokl. Acad. Nauk. SSSR Ser. Biol.*; 199: 226-7, 1971.
63. FARDOQ, M. O., VARSHNEY, I. P. & KHAN, M. S. Y., *J. Am. Pharm. Ass. Sci. Edn.*, 48: 466-8, 1959.
64. VARSHNEY, I. P. & KHAN, M. S. Y. *J. Scient. Ind. Res.*, 21B: 401, 1962.
65. VARSHNEY, I. P. & SHANSUDDIN, K. M. *Indian J. Chem.*, 2: 376, 1964.
66. TURSCH, B., TURSCH, E., HARRISON, I. T., BRAZAO DA SILVA, G. B. C. T. C., MANTEIRO, H. J., GILBERT, B., MORS, W. B. & DJERESSI, C. J. *J. org. Chem.*, 28: 2390-4, 1963.

67. BALBAA, S. I., ZALI, A. Y. & EI-SHAMY, A. M. *J. Pharm. Sci.*, **16**: 65-73, 1975.
68. JEWERS, K., & COKER, NEESA. *Phytochemistry*, **10**: 2263-65, 1971.
69. SANDREBRG, F. *J. Scient. Int. Res.*, **4**: 258-72, 1961.
70. SANDBERG, F., ALDENIUS, B. & THORSEN, R. *Desv. Svensk. farmaceutisk tidskrift*, **20**: 541-53, 1959.
71. SEGAL, R., GOVRIN, H. & ZIATCHEK, D. V. *Tetrahedron Letters*, **10**: 527-30, 1964.
72. FAZLI, F. R. Y. & HARDMAN, R. *Trop. Sci.*, **10**: 66-78, 1968.
73. VARSHNEY, I. P. & SHARMA, S. C. *J. Indian Soc.*, **43**: 564-7, 1966.
74. FERNANDES, A. C. *Pharmacognosia*, VII Ed, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, p. 338-56, 1977.
75. PRICE, KEITH R., CURL, C. L. & FENWICK, G. *J. Sci. Food. Agric.*, **37**: 1185-91, 1986.
76. CLAUS, P. EDWARD & TYLER, VARRO E. *Pharmacognosia*, 5^a Ed.,

Buenos aires-Argentina, Libreria el Ateneo, p. 110-2, 1968.

77. BASU, N. & RASTOGI, R. P. *Phytochemistry*, 6: 1249-70, 1967.

78. STRIGINA, L. I., CHETYRINA, N. S., ISAKOV, V. V., ELKIN, N., DZIZENKO, A. K. & ELYAKOV, B. *Phytochemistry*, 14: 1583-86, 1975

79. Braga, R. *Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará*. Mossoró, Escola de Agricultura de Mossoró, 42: 90; 436, 1976.

80. VARSHNEY, I. P. & SHAMSUDDIN. *Tetrahedron Letters*, (17): 1187-97, 1965.

81. ISHII, H., TORI, K., TOZYO, T., & YOSHIKURA, Y. *Chem. Pharm. Bull.*, 26: 672-3, 1978.

82. BUDZIKIEWICZ, H., WILSON, J. M. & DJERASSI, C. J. *Amer. Chem. Soc.*, 85: 3688-99, 1963

83. WEHRLI, F. W. & NISHIDA, T. The use of Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy in natural products chemistry. In: *Progress in Chemistry of Organic Natural Products*. New York, /springer-Verlag, 36: 1979.

84. LRMIEUX, R. U., KULLNIG, R. K., BERNSTEIN, H. J. & SCHNEIDER, W. K. *J. Amer. Chem. Soc.*, 80: 6098-105, 1958.
85. BREITMAIER, E. & VOELTTR, W. *Carbon 13 NMR Spectroscopy ahigh-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*. (3th ed.), New York, VHC, p. 396, 1978.
86. ABDEL, S. M. & SELIN, M. A. WAHAB. *Fitoterapia*, 56(3): 167-8, 1985.
87. JACOBS, WALTER, A. *J. Biol. Chemistry*, 64: 379-81, 1925.
88. GORIN, P. A. J. & MAZUREK, H. *Can. J. Chem.*, 53: 1212-23, 1975
89. SOUSA, M. P., MATOS, E. O., MACHADO, M. I. L., BRAZ, FILHO, R., VENCATO, I. & MASCARENHAS, Y. P. *Phytochemistry*, 23(11): 2589-92, 1984.
90. TAKANIN M. KUBOTA, K. &MOZAWA, M. *Chem. Pharm. Bull.*, 25(5): 981-5, 1977
91. GAUDMER, A., POLONEKY, M. J. & WENKERT, E. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 107-11, 1964.

92. BOMBARDELLI, E., BONATI, A., GABETA, B. & MUSTICHI, G.
Phytochemistry, 13: 2559-62, 1974.
93. TSUDA, Y., SANDO, T., MORIMOTO, A., HATANAKA, M. &
INUBUSHI, Y. *Chem. Pharm. Bull.*, 22(14): 2383-95, 1974.
94. TSUDA, Y. & FUJIMOTO, T. *Chem. Comm.*, 260-2, 1970.
95. SHAMMA, M., GLICK, R. E. & KUMMA, R. O. *J. Org. Chem.*, 27:
1513-7, 1962.
96. SING, B. & RASTOGI, R. P. *Phytochemistry*, 8: 917-21, 1969.
97. HUI, W. H. & LEE, W. K. *J. Chem. Soc.*, (C): 1004-6, 1971.
98. TSUDA, Y. et alii. *Chem. Pharm. Bull.*, 22(10): 2396-401,
1974.
99. PARKHURST, R. M., THOMAS, L. W., & CARY, E. J.
Phytochemistry, 19: 273-5, 1980.
100. OYAMA, T., AOYAMA, H. & YAMADA, K. *Tetrahedron Letters*,
(44): 4639-41, 1968.
101. PASCUAL, J. DE T., DIAZ, F. & GRANDE, M. *An. Quim.*, 74:
311-4, 1978.

102. PARKHURST, R. M., THOMAS, D. W. & SKINNER, W. A.
Phytochemistry, 12: 1437-42, 1973.
103. STRIGINA, L. I., CHETRYNA, N. S., ISAKOV, V. V., ELKIN,
YU. N., DZIZENKO, A. K. & ELYAKOV, G. B. *Phytochemistry*,
14: 1583-6, 1975.
104. BASSIEUX, D., GAGNAIRE, D. & VIGNON, M. *Carbohydrate
Research*, 56: 19-33, 1977.
105. MATOS, M. C. D., SOUSA, M. P., MACHADO, M. I. L. & BRAZ
FILHO, R. *Phytochemistry*, 25(6): 1419-22, 1986.
106. LAFITE, C., DU, A. M. N. P., WINTERNITZ, WYLDE, R. &
PRATICAL-SOSA, F. *Carbohydrate research*, 67: 105: 1978.
107. HARIHARAN, V. & RANGASWAMI, S. *Phytochemistry*, 9: 409-14,
1970.
-